

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**Investigação do consumo de álcool, cocaína e
crack por vítimas de homicídio na região
metropolitana da Grande Vitória - ES.**

EVANDRO CARLOS LEBARCH

Vitória, 2017

Investigação do consumo de álcool, cocaína e crack por vítimas de homicídio na região metropolitana de Vitória - ES.

EVANDRO CARLOS LEBARCH

Orientadora: Prof.^a Dr^a. Ester Miyuki Nakamura-Palacios

Co-Orientadora: Prof.^a Dr^a. Livia Carla de Melo Rodrigues

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Área de Concentração: Neurociências e Comportamento

Vitória

2017

Investigação do consumo de álcool, cocaína e crack por vítimas de homicídio na região metropolitana da Grande Vitória - ES.

EVANDRO CARLOS LEBARCH

Orientadora: Profa Dra Ester Miyuki Nakamura-Palacios

Co-Orientadora: Profa Dra Livia Carla de Melo Rodrigues

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Aprovada em 28/08/2017 por:

Prof^a. Dr^a. Ester Miyuki Nakamura-Palacios - Orientadora (UFES)

Prof. Dr. Henrique de Azevedo Futuro Neto - (EMESCAM, UNIVIX)

Prof^a. Dr^a. Maria Carmen Viana – (PPGAS, UFES)

Prof^a. Dr^a. Maria da Penha Zago Gomes – (PPGMED, UFES)

Prof^a. Dr^a. Sônia Alves Gouvea – (PPGCF, UFES)

Prof^a. Dr^a. Alessandra Padilha - Coordenadora do PPGCF – UFES

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL
DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU
ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE
CITADA A FONTE.**

Espaço reservado aos dados de catalogação na publicação Biblioteca Central da
Universidade Federal do Espírito Santo



“Não preciso me drogar para ser um gênio;
Não preciso ser um gênio para ser humano;
Mas preciso do seu sorriso para ser feliz.”

Charles Chaplin

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Cecília e Félix e a toda a minha família, em especial a minha filha Ana Clara e a minha esposa Patrícia.

A Prof.^a Dra. Ester, minha orientadora, pesquisadora dedicada, ser humano maravilhoso, um verdadeiro exemplo para minha vida pessoal e profissional.

**Obrigado pelo carinho e amizade. Professora, sou seu fã e tenho profunda
admiração pelo seu trabalho.**

AGRADECIMENTOS

A Deus criador de todas as coisas, por me proporcionar esta oportunidade na vida. E me dar equilíbrio para prosseguir.

A Profa Dra Lívia Carla de Melo Rodrigues, minha co-orientadora, pela amizade dedicação e carinho, nunca vou esquecer da força que me deu, sempre me ajudando quando precisava. Desejo tudo de bom para sua vida e pode contar comigo.

Agradeço a todos os amigos Peritos Bioquímicos do Laboratório de Toxicologia do ES, que tanto me ajudaram neste trabalho, em especial a Josi, Fabrício, Mariana, Dani, Jamili, Janine, Jauber, Amanda, Bazza e Grazi. Obrigado galera, pelo carinho e amizade.

Ao Prof. Dr. Valdir Ribeiro Campos, pela ajuda e atenção dada, pela participação do projeto junto a FAPES.

Aos meus amigos do Laboratório de Ciências Cognitivas e Neuropsicofarmacologia da UFES, Elisa, Ingrid, Juliana, Marcelo, Cleciene, Josué e demais colegas.

Ao Leandro da SPTC, funcionário do Departamento Médico Legal da Polícia Civil do ES no ano 2014, que muito me ajudou no levantamento de dados sociodemográficos.

Ao Orlando que realizou a coleta de material sanguíneo para as extrações.

Aos professores da pós-graduação do Departamento de Ciências Fisiológicas, agradeço pelos cursos ministrados.

A FAPES (Fundação de Apoio à Pesquisa do Espírito Santo), pelo apoio financeiro.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), agradeço também pela ajuda financeira.

A Superintendência de Polícia Técnico Científica do Espírito Santo (SPTC), um agradecimento especial por tornar esse trabalho possível.

A todos aqueles que de forma direta ou indireta colaboraram para a realização desta tese, meu sincero agradecimento.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	Álcool - Uma breve história	22
1.2	Efeitos do álcool no Sistema Nervoso Central (SNC)	23
1.3	Danos decorrentes da utilização do Álcool	25
2.1	Cocaína – Uma breve história	26
2.2	Efeitos da cocaína no SNC	28
2.3	Danos decorrentes da utilização da cocaína	30
2	JUSTIFICATIVA	34
3	OBJETIVOS	35
3.1	Objetivo geral	35
3.2	Objetivos específicos	35
4	Materiais e Métodos	36

4.1	Desenho Experimental.....	36
4.2	Sujeitos experimentais	36
4.4	Dosagem da Alcoolemia.....	38
4.5	Dosagem da cocaína/ e seus metabólitos	40
5	RESULTADOS	46
6	REFERÊNCIAS	66
7	ANEXOS.....	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Estrutura do canal NMDA: interferência do etanol no sítio da glicina.....24

Figura 02 - **(A)** Estrutura do receptor GABA_A e GABA_B {Formatting Citation}. **(B)** Aumento do influxo de cloreto na ligação do etanol com o receptor GABA_A (FLOREZ, 1998).24

Figura 03 - Diferenças químicas entre a Cocaína **(A)** e o Crack **(B)**.28

Figura 04 - Vias dopaminérgicas: locais de atuação da cocaína no cérebro.....29

Figura 05 - Produtos de biotransformação, combustão e transesterificação da cocaína (PAUL et al., 2005; PETERSON; LOGAN; CHRISTIAN, 1995)31

Figura 06 - Ações da cocaína no aparelho cardiovascular(CHAKKO; MYERBURG, 1995).32

Figura 07 - Tubo de coleta de sangue, contendo Fluoreto de Sódio para preservação dos metabólitos e produtos de transformação da cocaína/crack.37

Figura 08 - Frascos de headspace contendo os PI n-propanol e o sangue a ser analisado, junto com os padrões de controle da curva de 2, 8 e 20 dg/L.....38

Figura 09 - (A) – Cromatógrafo a Gás (GC-FID) com detector de Ionização por chama (B) – Extrator headspace responsável pela volatilização do álcool para dosagem.....	39
Figura 10 - Cromatograma do n-propranol (PI) e do Etanol, na parte de baixo da figura observa-se o valor dosado.	40
Figura 11 - Processo de extração das drogas do sangue por etapas. PI =Padrão Interno, COC = cocaína, BEG = benzoilecgonina, AEME = Anidroecgonina metil éster, CE = cocaetileno.	41
Figura 12 - Curva de calibração cocaína em ng/mL.	42
Figura 13 - Cromatograma da COC D3 (PI), e espectro de massa de seus íons.....	43
Figura 14 - Procedimento da coleta de material biológico para análise de álcool, cocaína e seus metabólitos das vítimas de homicídios da Região Metropolitana de Vitória. DML = Departamento Médico Legal.....	45
Figura 15 - Quantidade percentual de recolhimento de corpos de vítimas de homicídios da Região Metropolitana de Vitória, ES.	46

Figura 16 - Concentrações (média \pm E.P.M.) de álcool (EtOH), em dg/L, de cocaína (COC) e BEG: Benzoylecgonina; AEME: Anidroecgonina Metil Éster), em ng/mL, em amostras de sangue de vítimas de homicídios em 2014 na Região Metropolitana da Grande Vitoria, ES, dados da amostra total com positividade para drogas (A: n = 236), separadas por gênero, masculino (B: n = 212) e feminino (C: n = 24).57

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Fragmentos de íons das drogas gerados pelo espectrômetro de massas..... 43

Tabela 2 - Características sociodemográficos das vítimas de homicídios em 2014 na Região Metropolitana da Grande de Vitória, ES e presença (em porcentagem) de álcool, crack / cocaína ou a combinação dessas drogas de acordo com gênero, idade (média e desvio padrão da média - DP), raça e a arma que foi usada na vítima (causa morte). 48

Tabela 3 - Medidas quantitativas de álcool (EtOH), cocaína (COC), benzoilecgonina (BEG) e anidroecgonina metil éster (AEME) separados por categorias, encontradas em vítimas de homicídios, que apresentaram positividade para drogas em suas amostras sanguíneas no ano de 2014, na Região Metropolitana de Vitória, ES. 54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AEME	Anidroecgonina metil éster
BEG	Benzoilecgonina
COC	Cocaína
CE	Cocaetileno
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
SPTC	Superintendência de Polícia Técnico Científica
CG-FID	Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama
LOQ	Limite de Quantificação
PI	Padrão Interno
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DML	Departamento Médico Legal
PC	Polícia Civil
ES	Espírito Santo
OMS	Organização Mundial de Saúde
MSTFA	N-Metil-N-(trimethylsilyl) trifluoroacetamida

RESUMO

Investigação do consumo de álcool, cocaína e crack por vítimas de homicídio na região metropolitana de Vitória - ES.

Antecedentes: O uso de drogas de abuso é frequentemente relacionado à violência, mas não há ou existem poucos estudos que tenham apresentado análises toxicológicas quantitativas em vítimas fatais.

Objetivo: Identificar e quantificar álcool, cocaína e metabolitos, e crack através do seu produto de pirólise em vítimas de homicídios na Região Metropolitana da Grande Vitória.

Métodos: Trata-se de um estudo transversal, que examina a presença e as concentrações sanguíneas de álcool, cocaína e benzoilecgonina (BEG) e anidroecgonina metil éster (AEME), como indicativo de uso de crack, em uma amostra de 485 de 1005 vítimas de homicídios na Região Metropolitana da Grande Vitória do Espírito Santo - Brasil durante o ano de 2014.

Resultado: A grande maioria das vítimas (85,3%) foi de jovens com idade entre 18 a 40 anos. Uma alta proporção destas amostras (48,7%) mostrou somente álcool (25,8%) ou crack ou cocaína isoladamente (41,1%), ou uma mistura de cocaína e álcool (33,1%). Uma elevada porcentagem de crack ou cocaína foi encontrada em extremos de idades: em vítimas muito jovens, menores de 18 anos (73,3%) e entre 18 a 30 anos (52,7%), e em vítimas de idades mais avançadas, 51 a 60 anos (50%) e acima de 60 anos (66,7%). Embora em número menor (9,1%), a maioria das vítimas femininas foram positivas para drogas (54,5%), sendo que a metade (50%) destas apresentaram crack ou cocaína. As quantidades de álcool foram maiores em vítimas adultas e mais velhas, a cocaína foi mais frequente entre adultos jovens e o AEME foi

encontrada em vítimas mais jovens. A BEG foi encontrada em maiores quantidades em mulheres.

Conclusão: Quase metade da amostra de vítimas de homicídio da Região Metropolitana de Vitória apresentou drogas no sangue. Algumas delas, especialmente os jovens ou mulheres, com concentrações sanguíneas muito altas de cocaína, BEG ou AEME.

ABSTRACT

Investigation of the consumption of alcohol, cocaine and crack by homicide victims in the Metropolitan Region of Vitória – ES.

Background: The drug of abuse is often related to violence, but there are no studies or few that show quantitative toxicological analysis in fatal victims.

Aims: To identify and quantify alcohol, cocaine (COC) and metabolite, crack cocaine through its pyrolysis product in the metropolitan region of Vitória – ES.

Methods: This was a cross-sectional, single-center study examining the presence and blood concentrations of alcohol, cocaine and benzoylecgonine (BEG), and anhydroecgonine methyl ester (AEME), as indicative of crack use, in a sample of 485 out of 1005 homicide victims in a metropolitan region of Southeastern Brazil during the year 2014.

Result: The great majority (85.3%) was young victims aging less than 18 to 40 years. A high proportion (48.7%) showed either alcohol alone (25.8%) or crack or cocaine alone (41.1%), or a mixture of cocaine and alcohol (33.1%). A high percentage of crack or cocaine was found in extreme ages: the youngest, less than 18 years (73.3%) and 18 to 30 years (52.7%), and the oldest, 51 to 60 years (50%) and above 60 years (66.7%). Although at smaller number (9.1%), females victims were mostly positive for drugs (54.5%), 50% of which for crack or cocaine. Amounts of alcohol were greater in adult and old victims, cocaine in young adults and AEME in younger. BEG was found in higher amounts in women.

Conclusion: Almost half of a sample of homicide victims from an urban region in southeastern Brazil showed drugs in their blood. Some of them, especially very young or females, with very high blood concentrations of cocaine, BEG or AEME.

1 INTRODUÇÃO

O abuso de bebidas alcoólicas e drogas ilícitas tem sido um problema de saúde pública em todo o mundo. Pesquisas demonstram que os usos de substâncias psicoativas estão associados a acidentes automobilísticos, violência familiar e social. (PELIÇÃO et al., 2016; “UNODOC - United Nations Office on Drugs and Crime. Global Study on Homicide:Trends, Context, Data”, 2012). No Brasil tem se identificado um alto consumo destas substâncias pelos adolescentes em risco e vulnerabilidade social, com transtornos de humor e transtornos familiares (MADRUGA et al., 2012).

Quando nos referimos ao consumo de álcool no Brasil, a população em geral apresenta uma grande quantidade de abstêmios, embora o uso da bebida em excesso seja comum (CAETANO et al., 2012, 2013). Um estudo multicêntrico realizado com 1247 adolescentes em escolas em 124 cidades brasileiras, entre março de 2013 e Dezembro de 2014, mostrou que 1/5 beberam pelo menos uma vez nos últimos 30 dias, concluindo que o consumo de álcool por adolescentes é bastante frequente (COUTINHO et al., 2016). Outra pesquisa realizada na cidade de São Paulo em 2005 mostrou que foi detectado álcool no sangue de 43% das vítimas de homicídio, mostrando a relação do etanol com a violência (ANDREUCCETTI et al., 2009). Portanto, o álcool continua sendo um grande fator de vitimização na nossa população de jovens e adultos, mulheres ou homens.

Aproximadamente 230 milhões de pessoas, ou 5% da população adulta do mundo consumiu algum tipo de droga ilícita pelo menos uma vez em 2010 (“UNODOC - United Nations Office on Drugs and Crime. Global Study on Homicide:Trends, Context, Data”, 2012). Um estudo epidemiológico (NESARC) não identificou níveis diferentes de violência gerados quando se usa crack ou cocaína, embora se especule que

usuários de crack estão mais propensos à violência doméstica (VAUGHN et al., 2010). Um estudo no Brasil relata uma alta taxa anual de mortes entre usuários de crack, sendo que os homicídios corresponderam a 56% das mesmas (DUAILIBI; RIBEIRO; LARANJEIRA, 2008). O Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID), no VI Levantamento Nacional sobre o consumo de drogas psicotrópicas entre estudantes do ensino fundamental e médio da escola das redes privadas e públicas de 27 cidades no ano de 2010, mostrou que o álcool e o tabaco são as drogas mais prevalentes. Embora o uso do crack não tenha se destacado, houve um aumento do consumo da cocaína entre os estudantes naquele período (“CEBRID - Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas. VI Levantamento Nacional sobre o consumo de drogas Psicotrópicas entre Estudante da rede de Ensino fundamental e Médio das redes Pública e Privada de ensino das 27 capitais do ano de 20”, 2010).

Em um levantamento local realizado pelo Laboratório de Toxicologia do Departamento Médico Legal da Polícia Civil do Espírito Santo foi verificado que 44,4% das mortes violentas na região da Grande Vitória exibiu positividade para metabólitos em teste de urina para derivados de cocaína (FARIA et al., 2007), porém neste estudo não foi feita a distinção entre o uso de crack e cocaína.

Posteriormente introduziu-se uma técnica que possibilita identificar o usuário de crack. Assim, atualmente a distinção entre os usuários de cocaína e crack pode ser realizada laboratorialmente pela pesquisa do Anidroecgonina metil éster (AEME) e da benzoilecgonina (BEG) em cromatografia gasosa. O AEME é considerado um marcador do uso do crack por ser proveniente da pirólise da cocaína quando o crack é aquecido no momento do fumo, enquanto a BEG desponta como produto de

biotransformação da cocaína (LIBERTY et al., 2003). Portanto, como a cocaína é o princípio ativo do crack, em usuários de crack, a presença do AEME é obrigatória, porém a cocaína ou seu metabólito, BEG, podem estar presentes, mas não a cocaína obrigatoriamente, para se determinar o uso da substância.

Mediante ao exposto, é notável o envolvimento do uso da droga, vinculado a um comportamento violento. Torna-se imprescindível verificarmos também, os efeitos nocivos da presença e a quantidade dessas substâncias no organismo, levando em consideração quais são os principais órgãos e sistemas que elas agem e afetam, e quais danos podem causar a associação dessas drogas no indivíduo.

1.1 Álcool - Uma breve história

O primeiro relato de uso de álcool data de há 8.000 anos A.C, uma análise de resíduos de jarros que continham a mistura mel, arroz e cereja fermentados naquela época, concluiu que se tratava de uma bebida alcoólica. Há 1.000 anos antes de cristo as bebidas alcoólicas já eram consumidas em toda a África e Ásia. Na Roma antiga o vinho era amplamente utilizado pelos imperadores romanos e na idade média a comercialização e o consumo de vinhos e cervejas se expandiram(GATELY, 2008) .

O consumo de álcool então continuou a crescer junto com a humanidade. Após a revolução industrial ocorreu o barateamento do custo da bebida alcoólica, popularizando e aumentando o consumo, fazendo com isso, com que o uso excessivo passasse a ser visto como doença ou desordem mental. Em 1920 os Estados Unidos da América decretaram a “lei seca”, em que era proibido produzir, comercializar, importar ou consumir qualquer tipo de bebida alcoólica, o que foi um desastre para a

economia americana, devido aos impostos que eram arrecadados com a venda das bebidas. Essa lei vigorou até 1932(GATELY, 2008).

Em 1967 foi implementada pela OMS (Organização Mundial de Saúde), o alcoolismo na Classificação Internacional das Doenças com o CID-8. No Brasil foi sancionada a aplicação da Lei Seca (Lei Nº 11.705, de 19 de junho de 2008), que determina a proibição de dirigir sob qualquer quantidade de álcool no sangue, e também a Lei Nº 13.106, de 17 de março de 2015, que criminaliza “vender, fornecer, servir, ministrar ou entregar, ainda que gratuitamente, bebidas alcoólicas de qualquer forma, a criança ou a adolescente”.

1.2 Efeitos do álcool no Sistema Nervoso Central (SNC)

O etanol é um depressor do sistema nervoso central. O principal mecanismo de ação do etanol está relacionado ao aumento da inibição sináptica produzido pelo GABA (neurotransmissor inibitório), com o consequente aumento do fluxo de cloreto (OGA, 2003).

Embora os mecanismos moleculares de sua ação ainda não estejam muito claros, o etanol atua em alguns canais iônicos ligados aos receptores GABA_A e glutamatérgicos NMDA (FLOREZ, 1998). Nos casos dos receptores NMDA, o álcool é um inibidor por interferir no sítio da ligação da glicina, aminoácido co-responsável pela abertura destes canais, influenciando os processos de memória e aprendizagem, assim como alguns aspectos da tolerância ao etanol (MORAES FERREIRA; MORATO, 1997; WOODWARD, 1994) (Figura 1).

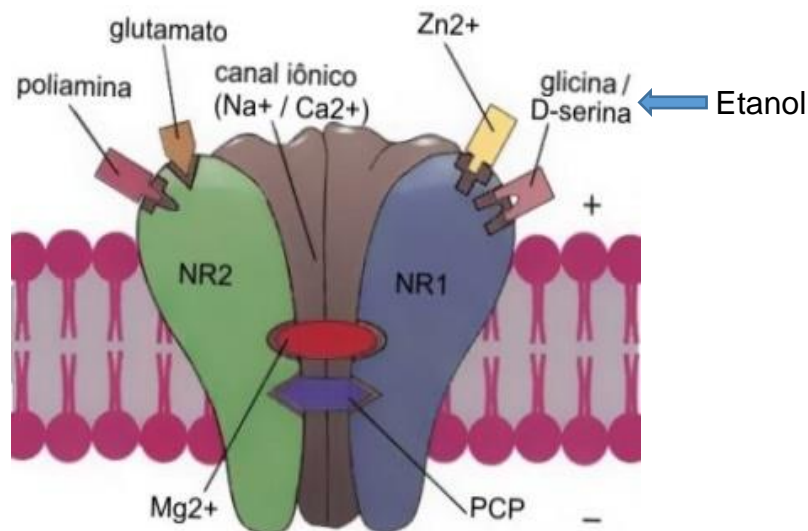


Figura 01 - Estrutura do canal NMDA: interferência do etanol no sítio da glicina.

O aumento do influxo de cloreto produzido pelo álcool é observado quando se trata da ação gabaérgica, explicando sua interação sinérgica com algumas drogas como benzodiazepínicos e barbitúricos, que possuem também a ação na abertura destes canais, aumentando assim sua ação depressora (FLOREZ, 1998) (Figura 2).

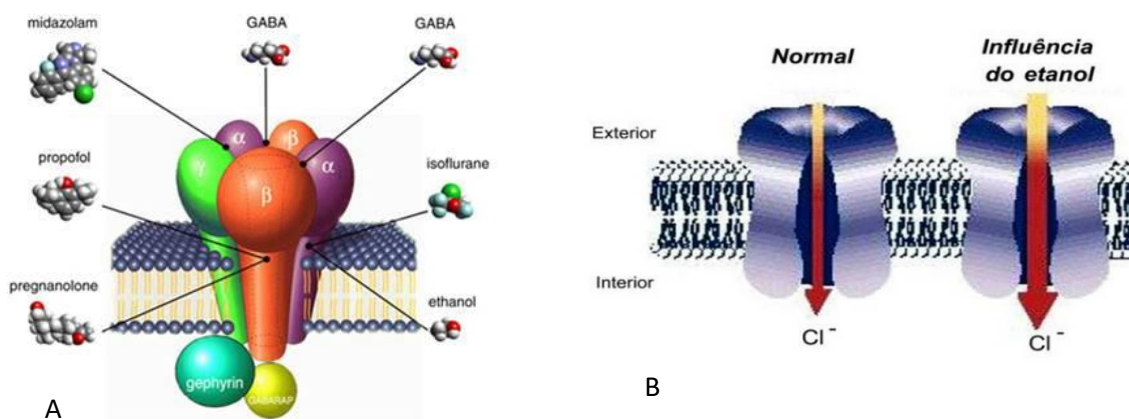


Figura 02 - (A) Estrutura do receptor GABA_A e GABA_B {Formatting Citation}. (B) Aumento do influxo de cloreto na ligação do etanol com o receptor GABA_A (FLOREZ, 1998).

O etanol também modifica a homeostase do íon cálcio (LONGO; CAMPBELL; HUBATCH, 2002), ocorrendo o aumento da densidade dos canais de cálcio voltagem

dependente. Esse aumento poderia contribuir para os sintomas da abstinência pelo álcool.

Há também evidências de que o etanol atua sobre a liberação de algumas aminas biogênicas no sistema nervoso central, como a dopamina, serotonina, noradrenalina e alguns peptídeos opióides. Neste caso a via mesolímbica, compreendida na área tegmental ventral do mesencéfalo e núcleo accumbens, seria ativada pela liberação de dopamina explicando os efeitos de recompensa do etanol (ZALESKI et al., 2004). Este mecanismo de recompensa seria responsável pelo prazer do uso da bebida.

1.3 Danos decorrentes da utilização do Álcool

Estudos tem demonstrado um forte fator de risco para doenças crônicas como câncer, diabetes e doenças cardiovasculares causadas pelo uso contínuo do álcool (PARRY; PATRA; REHM, 2011; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014). O etanol tem um forte impacto sobre o músculo cardíaco quando é consumido em excesso. Estudos sugerem um limiar de aproximadamente 80 g/dia para homens, nas mulheres esse limiar parece ser mais baixo, embora não haja estudos suficientes que comprovem isto. Consequentemente a quantidade ingerida é diretamente proporcional ao número de mortes, já a redução do consumo de álcool, demonstrou reduzir o risco de cardiomiopatia alcoólica e também de outras doenças (REHM et al., 2017).

Outro trabalho na China, demonstrou que os adolescentes que são mais propensos a ideias suicidas relacionados com a depressão, são consumidores rotineiros de álcool, tornando-se um dos maiores problemas de saúde pública do país (GUO et al., 2016). Uma pesquisa demonstrou que uma proporção considerável (44%) de estudantes que

participaram do estudo relatou consumir álcool em níveis prejudiciais. Estes indivíduos mostraram um aumento de 1,2 vezes mais probabilidades de demonstrar sofrimento psicológico, atraso escolar, incapacidade de se concentrar em aula e de concluir tarefas (TEMBO; BURNS; KALEMBO, 2017).

Alguns trabalhos trazem resultados controversos em relação ao uso do álcool. No caso da hipertensão, por exemplo, observa-se que o consumo diário e em baixas concentrações, o etanol pode diminuir a pressão arterial, enquanto que, o consumo moderado a intenso, está associado ao aumento do risco tanto quanto ao aumento da hipertensão (BRIASOULIS; AGARWAL; MESSERLI, 2012). Outro estudo sul coreano demonstrou que mulheres pós-menopausa eram beneficiadas com doses baixas de etanol, aumentando a densidade óssea diminuindo com isso o risco de osteoporose, porem o consumo em doses maiores trazem resultados contrários (JANG et al., 2017).

Todos estes trabalhos relacionam a maior quantidade ingerida com os malefícios do álcool. Com isso, verificamos a necessidade de saber quanto de álcool é consumido por uma determinada população, levando-se em conta a idade e sexo do indivíduo, e quanto isso influenciou a situação do seu possível “*status quo*”.

2.1 Cocaína – Uma breve história

Antes mesmo dos espanhóis colonizarem o Peru, a cocaína já era utilizada há muito tempo, aproximadamente há mais de 4500 anos pelas populações andinas das Civilizações pré-colombianas. A palavra coca vem do Aymara “Khoka”, que significa árvore, que é predominante no leste do Andes peruanos e usados até então pelos nativos que mascam as folhas de “coca”. Em 1963 um francês, Angelo Mariani, criou

um vinho que continha uma quantidade de cocaína usado como tônico restaurador, denominado de “Vin Mariani” (KARCH, 1989, 1999).

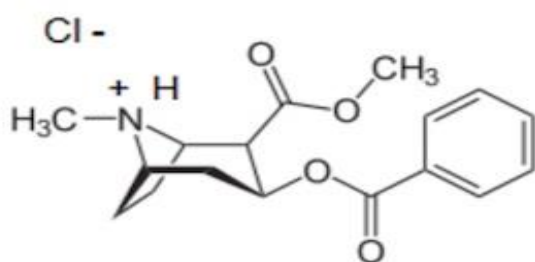
A cocaína foi descrita por Carl Koller 1884, interno de oftalmologia no Hospital Geral (Vienna Allgemeines Krankenhaus), como excelente anestésico local, sendo aplaudido de pé ao demonstrar o poder anestésico da droga no olho de um cão em um congresso de oftalmologia. Koller era colega de Sigmund Freud, que também era um admirador dos efeitos da cocaína, mas não recebeu os créditos da descoberta como anestésico local, que foi conferido para o seu colega Koller (MARKEL, 2011).

Em 1886 a Coca-Cola foi criada por John Pemberton, sendo denominada na época de elixir terapêutico, contendo quantidades pequenas de cocaína, que foi substituída por cafeína em 1906 (HAAS, 1995).

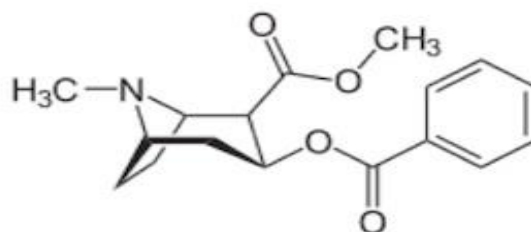
Em 1898, foram desvendadas a toxicidade da cocaína e suas propriedades aditivas. Muitos cirurgiões e anestesiológicos daquela época, tornaram-se vítimas de seu próprio uso. A partir de então, houve uma crescente conscientização sobre a associação das taxas crescentes de criminalidade com a distribuição e uso de cocaína. Nos EUA, em 1913, a cocaína foi declarada como inimigo público número um, e em 1920, foi reconhecida como a droga ilícita mais perigosa de todas. E estabeleceu-se no mundo, pelo uso abusivo desta droga, a guerra contra o tráfico, onde é proibido produzir, distribuir e comercializar a cocaína sob suas diversas formas (BAILEY, 1996).

2.2 Efeitos da cocaína no SNC

A cocaína é obtida a partir da maceração e extração das folhas de *Erythroxylon coca* (OGA, 2003), e pode se apresentar praticamente de duas formas químicas, na forma de sal, cloridrato de cocaína ou na forma básica, que é mais conhecida como crack, merla e oxi (ou pasta base). A cocaína pode ser injetada intravenosamente ou aspirada quando se encontra na forma de sal hidrossolúvel, ou pode ser utilizada fumada, na sua forma básica (BENOWITZ, 1992) (Figura 3).



A) Cocaína



B) Crack

Figura 03 - Diferenças químicas entre a Cocaína **(A)** e o Crack **(B)**.

Segundo VOLKOW et al. (2001), tanto a cocaína quanto o *crack* exercem seus efeitos farmacológicos por inibição da recaptação pré-sináptica das catecolaminas dopamina, noradrenalina e serotonina. E os efeitos de euforia e a sensação de prazer parecem estar relacionados ao bloqueio dos transportadores de dopamina (RITZ et al., 1987). A cocaína então produz euforia mediante um aumento das atividades das vias

dopaminérgicas mesolímbicas e mesocorticais, resultantes da interação da estimulação simultânea das vias serotoninérgicas e catecolaminérgicas (Figura 4).

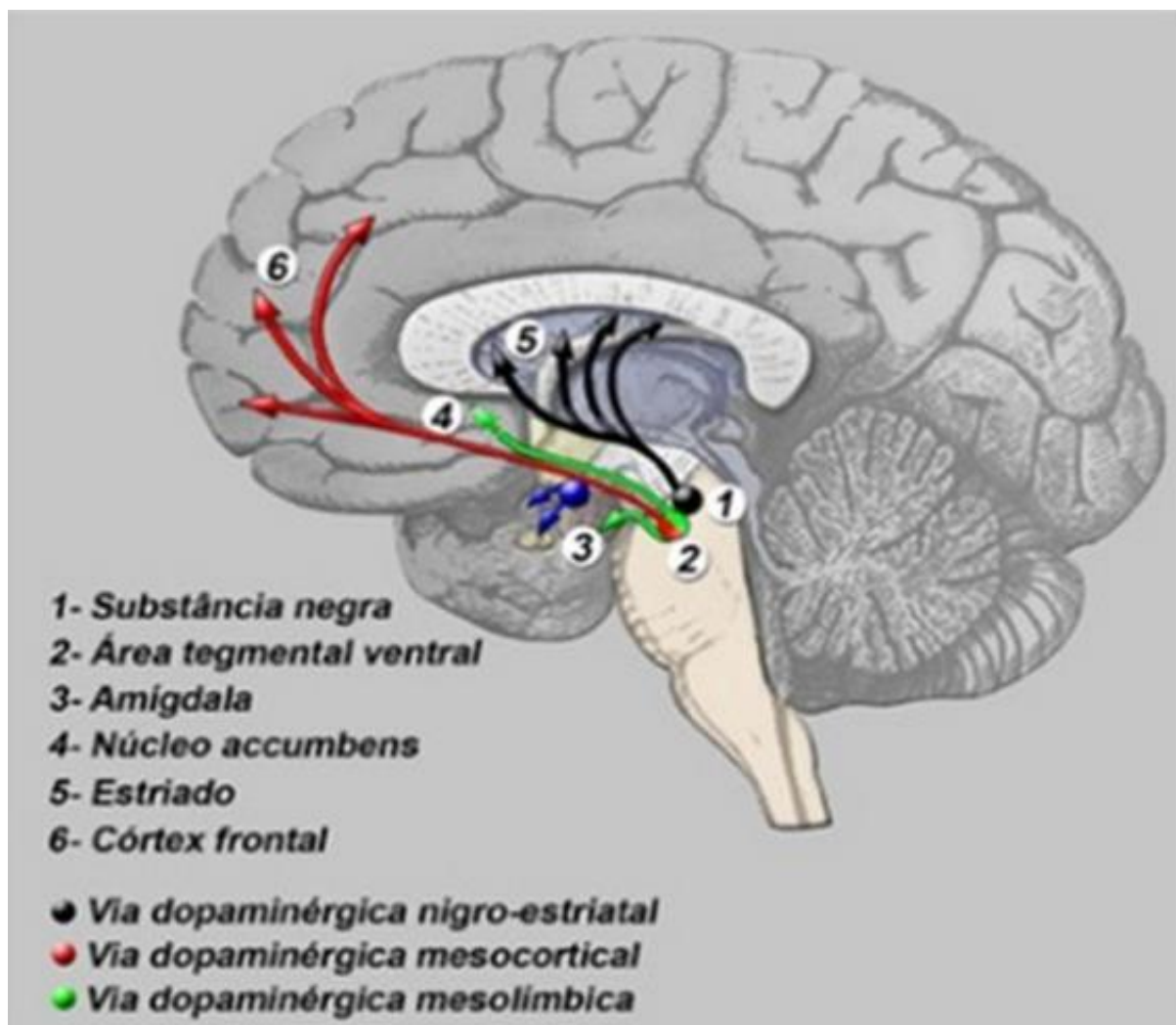


Figura 04 - Vias dopaminérgicas: locais de atuação da cocaína no cérebro.

A cocaína quando fumada (crack) apresenta sua ação em aproximadamente 10 segundos, com efeitos durando apenas alguns minutos, enquanto que a cocaína (cloridrato) começa a agir após 3 a 4 minutos de inalação, com duração de seus efeitos aproximadamente em 20 minutos (FLOREZ, 1998).

Quando o usuário fuma o *crack*, além dos efeitos da cocaína, existe também a presença do anidroecgonina metil éster (AEME), resultante da decomposição térmica da cocaína, contribuindo para os seus efeitos tóxicos (TOENNES et al., 2003).

2.3 Danos decorrentes da utilização da cocaína

A base livre de cocaína quando fumada (*crack*), é considerada a forma mais potente da droga (POZNER; LEVINE; ZANE, 2005). Somados a este fato na própria pasta base, existe uma grande quantidade de impurezas tóxicas, como, por exemplo, querosene, gasolina e metais pesados provenientes da forma de obtenção desta droga (OGA, 2003). Os estudos realizados em relação aos efeitos tóxicos da cocaína tanto quanto fumada ou aspirada revelam que ocorrem consequências cardiovasculares e cerebrais severos. E demonstra a formação de vários metabólitos possíveis de identificação (Figura 5).

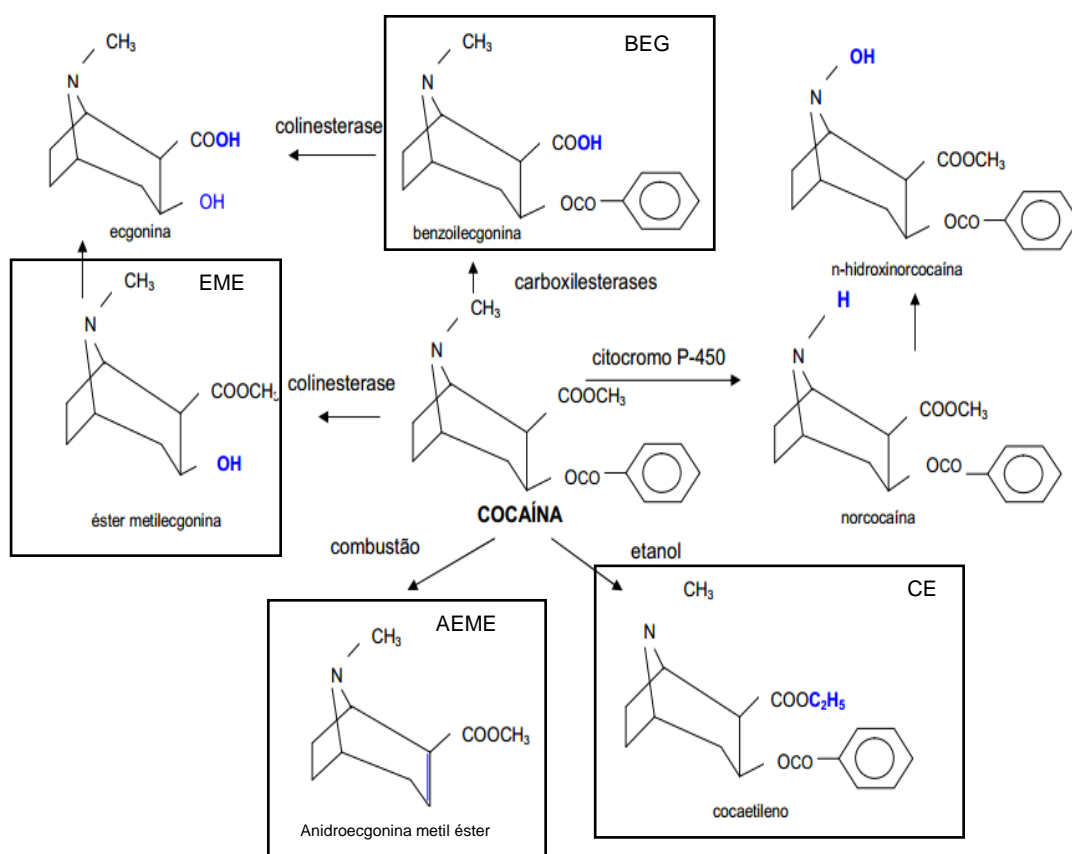


Figura 05 - Produtos de biotransformação, combustão e transesterificação da cocaína (PAUL et al., 2005; PETERSON; LOGAN; CHRISTIAN, 1995)

Em relação às alterações cardiovasculares, a cocaína promove a produção de tromboxanos junto com o aumento de plaquetas circulantes. Estas plaquetas ativas liberam um fator de crescimento do musculo liso vascular, diminuindo o calibre e aumentando o risco da obstrução das artérias coronarianas (RINDER et al., 1994).

A formação de placa aterosclerótica em 30% a 40% em jovens com idade média de 32 anos foi observada nestes usuários após a necropsia, estudos revelam que o A IL-6 e o TNF-alfa estão aumentados após o uso da cocaína (MOLITERNO et al., 1994).

Em indivíduos de baixo risco a possibilidade de um infarto agudo do miocárdio é aumentado em 24 vezes na primeira hora da utilização da droga (HOLLANDER et al.,

1995). Na figura 6 descrita por CHAKKO; MYERBURG (1995), mostramos um resumo dos efeitos cardiovasculares da cocaína.

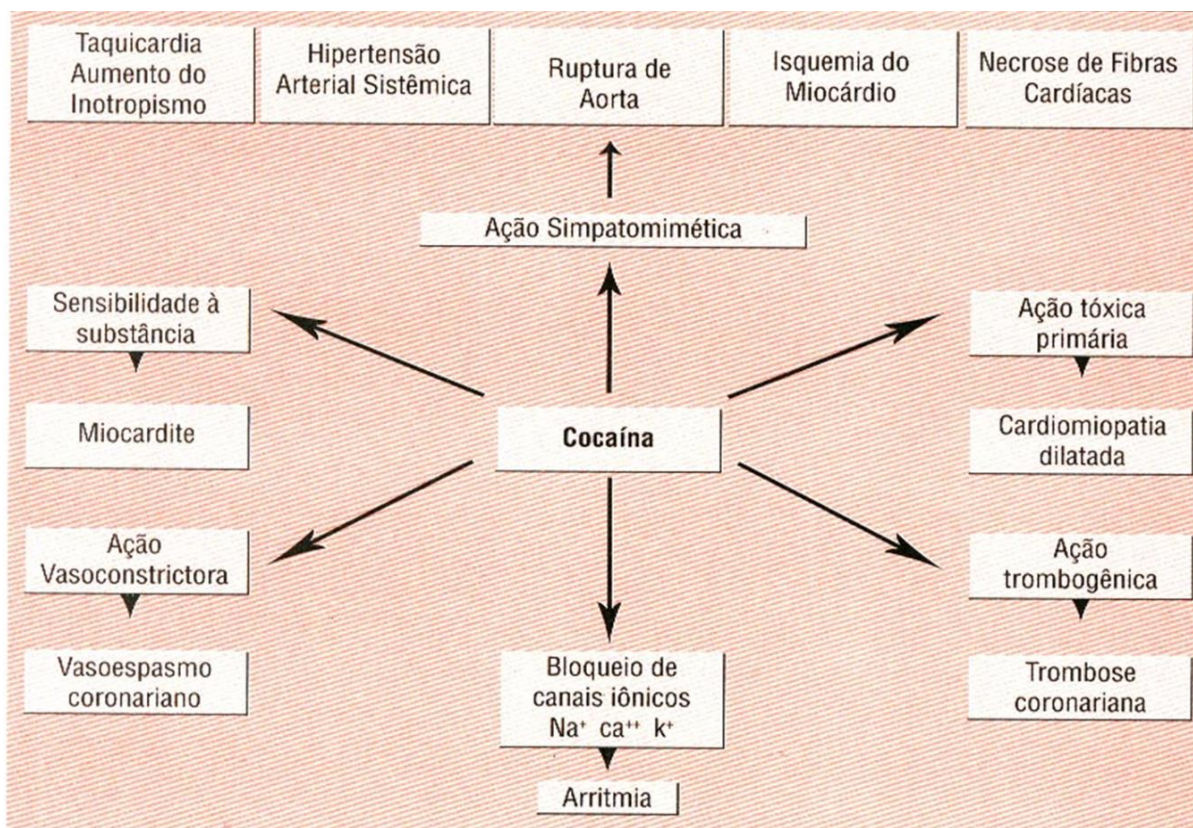


Figura 06 - Ações da cocaína no aparelho cardiovascular(CHAKKO; MYERBURG, 1995).

No sistema nervoso central (SNC), a cocaína produz perda de vesículas transportadores de monoaminas, com concomitantes danos nas fibras de dopamina no estriado, aumentando as desordens de humor desses usuários (LITTLE et al., 2003).

MURIACH et al. (2010) verificaram que a cocaína aumentava o estresse oxidativo através da produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), e o estresse oxidativo produzido quando se usa a cocaína em altas doses, causa a morte neuronal (MACÊDO et al., 2010).

Outro fator importante é que muitos usuários utilizam a droga em associação com outras substâncias. Este fato é responsável por mais de 43% das mortes por *overdose*. A principal substância que é associada à cocaína é o etanol (ESCOBEDO et al., 1991).

A associação do etanol com a cocaína em suas diversas formas de utilização produz um metabólito altamente prejudicial formado por transesterificação das duas substâncias, resultando na molécula do cocaetileno (CE). Esta substância embora com menor potência que a cocaína, possui maior distribuição pelos tecidos do cérebro, permanecendo mais tempo com seus efeitos tóxicos (MCCANCE et al., 1995).

Outros fatores que colocam o CE como de grande risco para os usuários é o maior potencial de bloqueio de canais de sódio no músculo cardíaco (XU; CRUMB; CLARKSON, 1994), e menor DL₅₀, aumentando a letalidade de seus efeitos em relação à cocaína (HART et al., 2000; MCCANCE-KATZ; KOSTEN; JATLOW, 1998). Levando em consideração ao exposto, verificamos que existem poucos estudos ou nenhum, que pesquisaram a presença e quantificação de droga no sangue de vítimas de homicídios no Espírito Santo (ES). É importante saber qual o nível de envolvimento com a violência e o abuso destas substâncias (lícita ou ilícita) e qual a quantidade que apresentaram em seu sangue. Além de quantos estão relacionados a um problema de saúde pública.

2 JUSTIFICATIVA

Embora existam evidências epidemiológicas que mostrem aumentos progressivos no uso de cocaína, especialmente na América do Sul (REPORT; WORLD, 2016) e uma associação entre este uso e mortes violentas, isto é, homicídios, não há estudos quantitativos medindo esta associação.

Assim, considerando a hipótese de que as mortes violentas, especialmente o homicídio, que ocorrem nas metrópoles, são devidas, em grande parte, ao uso e / ou ao tráfico de drogas, especificamente as drogas mais predominantes, como álcool (uma droga lícita), cocaína e crack (drogas ilícitas), este estudo se propõe a fornecer dados importantes que possam relacionar o contexto sociodemográficos dos homicídios com o envolvimento de álcool e drogas ilícitas em uma região metropolitana e entorno do estado do Espírito Santo, sendo realizado no decurso do ano de 2014.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Considerando-se que a quantificação das drogas não só aumenta a certeza que estas foram detectadas, mas também permite à medição da gravidade do uso este estudo teve como objetivo quantificar álcool, cocaína e crack em amostras sanguíneas de vítimas de homicídios na Região Metropolitana da Grande Vitória, durante o ano de 2014.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Pesquisar e quantificar a presença de álcool, crack e cocaína, das vítimas de homicídio na Região Metropolitana de Grande Vitória, ES.
- ✓ Relacionar os resultados toxicológicos obtidos com os dados demográficos das vítimas de homicídio.
- ✓ Identificar os locais da Região Metropolitana Vitória, ES que apresentam maior prevalência de mortes violentas relacionadas à criminalidade.

4 Materiais e Métodos

4.1 Desenho Experimental

Trata-se de um estudo transversal em que foram analisadas amostras de sangue de 485 vítimas de homicídio, de janeiro a dezembro de 2014, na Região Metropolitana da Grande Vitória, ES, que é composto por sete municípios: Cariacica, Fundão, Guarapari, Serra, Viana e Vila Velha e a capital do Estado, Vitória. As análises de álcool e drogas ilícitas foram realizadas de forma anônima e somente para fins científicos, não possuindo implicações administrativas ou legais.

4.2 Sujeitos experimentais

Das 1005 vítimas de homicídios entre janeiro e dezembro de 2014 na Região Metropolitana da Grande Vitória, ES, todas encaminhadas ao Departamento Médico Legal (DML), foram coletadas para análise 485 amostras sanguíneas. Não foi possível coletar em todas as vítimas, devido à disponibilidade técnica ou ao estado físico em que a vítima se encontrava. Também foram excluídas as vítimas que foram hospitalizadas anteriormente ou coletadas do local onde foram encontradas por mais de 12 horas, devido a metabolização da droga durante esse período, acarretando uma quantidade incerta no sangue. Os sujeitos da pesquisa receberam um código numérico, a fim de desvincular sua identificação com as amostras coletadas.

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Clínica da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Brasil, sob registro CAAE: 19773013.0.0000.5060, parecer número 68.362.

As amostras de sangue foram coletadas da veia femoral e armazenadas a uma temperatura de -20° C em tubos contendo fluoreto de sódio como conservante até a hora da análise (Figura 7).

Ressalte-se que a coleta de amostra biológica (tais como sangue e urina) em vítimas de morte violenta é uma rotina autorizada legalmente aos departamentos ou institutos médicos legais sob Decreto-Lei Nº 3.689, de 3 de outubro de 1941, do Código Penal Processual Art. 162, desde que a coleta não cause qualquer dano adicional ao estado do cadáver. Não havendo restrições éticas ou legais ou requerendo autorização familiar prévia para a realização do procedimento.

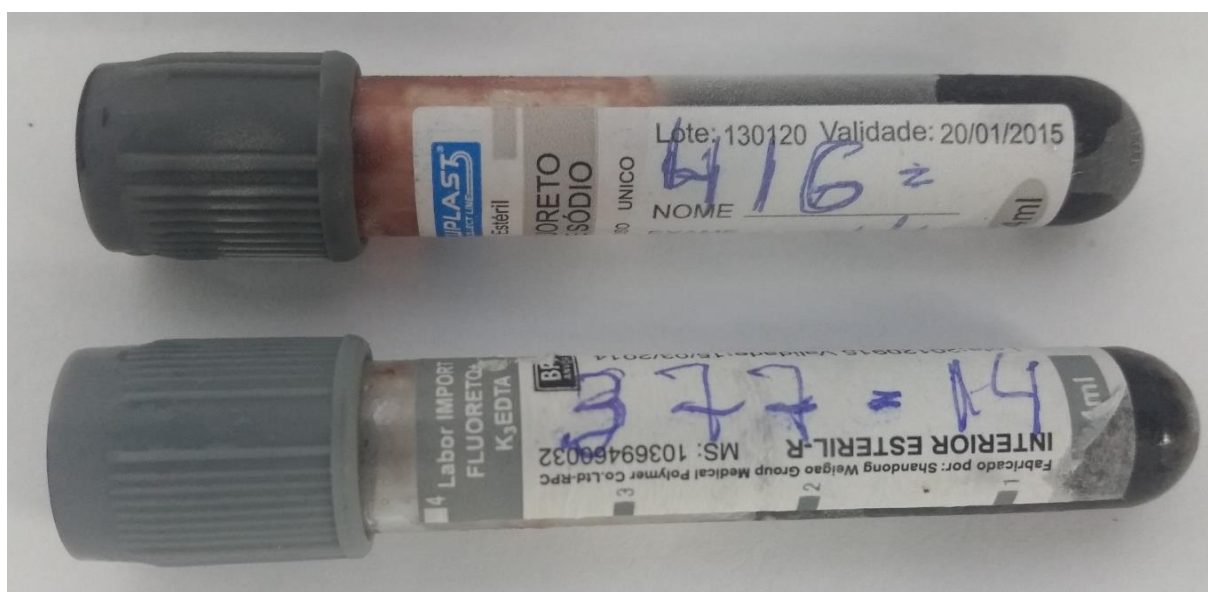


Figura 07 - Tubo de coleta de sangue, contendo Fluoreto de Sódio para preservação dos metabólitos e produtos de transformação da cocaína/crack.

Os dados concernentes à identificação dos indivíduos da pesquisa serão mantidos sob estrito sigilo durante o manuseio dos documentos, bem como nas futuras publicações, apresentações em congressos, aulas ou qualquer outra forma. Em todas as formas de apresentação dos resultados, as instituições envolvidas serão mencionadas.

4.4 Dosagem da Alcoolemia

A análise do álcool foi efetuada por uma extração por *Headspace* por cromatografia gasosa Varian 450 equipado com um detector de ionização de chama (GC-FID) (Palo Alto, CA, EUA) (Figura 8). O método de análise de álcool é usado rotineiramente no Laboratório de Toxicologia de Vitória e foi validado para os seguintes parâmetros: limite de quantificação (LOQ), linearidade, precisão, exatidão, especificidade / seletividade, *carryover* e estabilidade, de acordo com a legislação brasileira (ANVISA, 2003) LOQ foi de 1 dg/L e o intervalo de linearidade é de 1 a 40 g/L, precisão intra e inter dia, precisão, especificidade / seletividade, *carryover* e estabilidade foram dentro dos limites de aceitabilidade.

Este processo é realizado colocando-se dentro de um frasco de *headspace*, um padrão interno de 0,5 mL de n-propanol, mais 0,1 mL de sangue da amostra das vítimas de homicídios. Para se executar a dosagem, era necessário se construir uma curva de calibração preparada anteriormente com padrões de etanol(Figura 8).



Figura 08 - Frascos de *headspace* contendo os PI n-propanol e o sangue a ser analisado, junto com os padrões de controle da curva de 2, 8 e 20 dg/L.

E durante a execução da dosagem do etanol é também colocado 3 padrões para que seja verificada a qualidade da dosagem, sendo estes os pontos de controle da curva de 2dg/L, 8dg/L e 20dg/L.

Após este processo a amostra é colocada no CG-FID (Fig. 9A), o álcool da amostra que estiver presente, é então vaporizado no *headspace* (Figura 9B), e injetado posteriormente no GC-FID, sendo então analisado pelo detector de ionização por chama (FID). Todo esse processo é automatizado (Anexo 1).

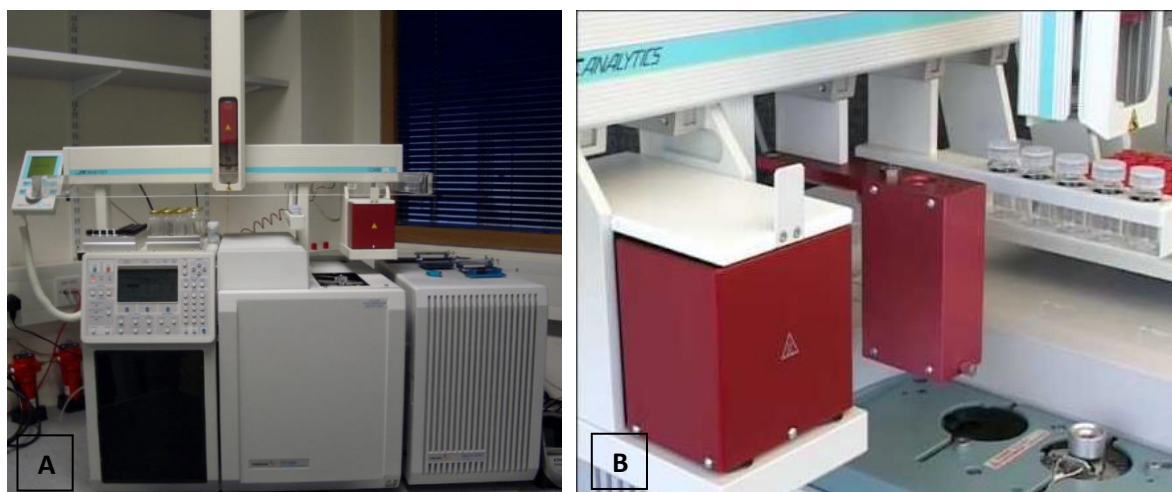


Figura 09 - (A) – Cromatógrafo a Gás (GC-FID) com detector de Ionização por chama **(B)** – Extrator *headspace* responsável pela volatilização do álcool para dosagem.

O valor proporcional do cromatograma do padrão n-propanol com o cromatograma do álcool presente na amostra determina automaticamente sua quantidade. Um nível de alcoolemia superior a 1 dg/L foi usado como o valor principal do limiar para confirmação positiva de álcool no sangue da vítima (Figura 10).

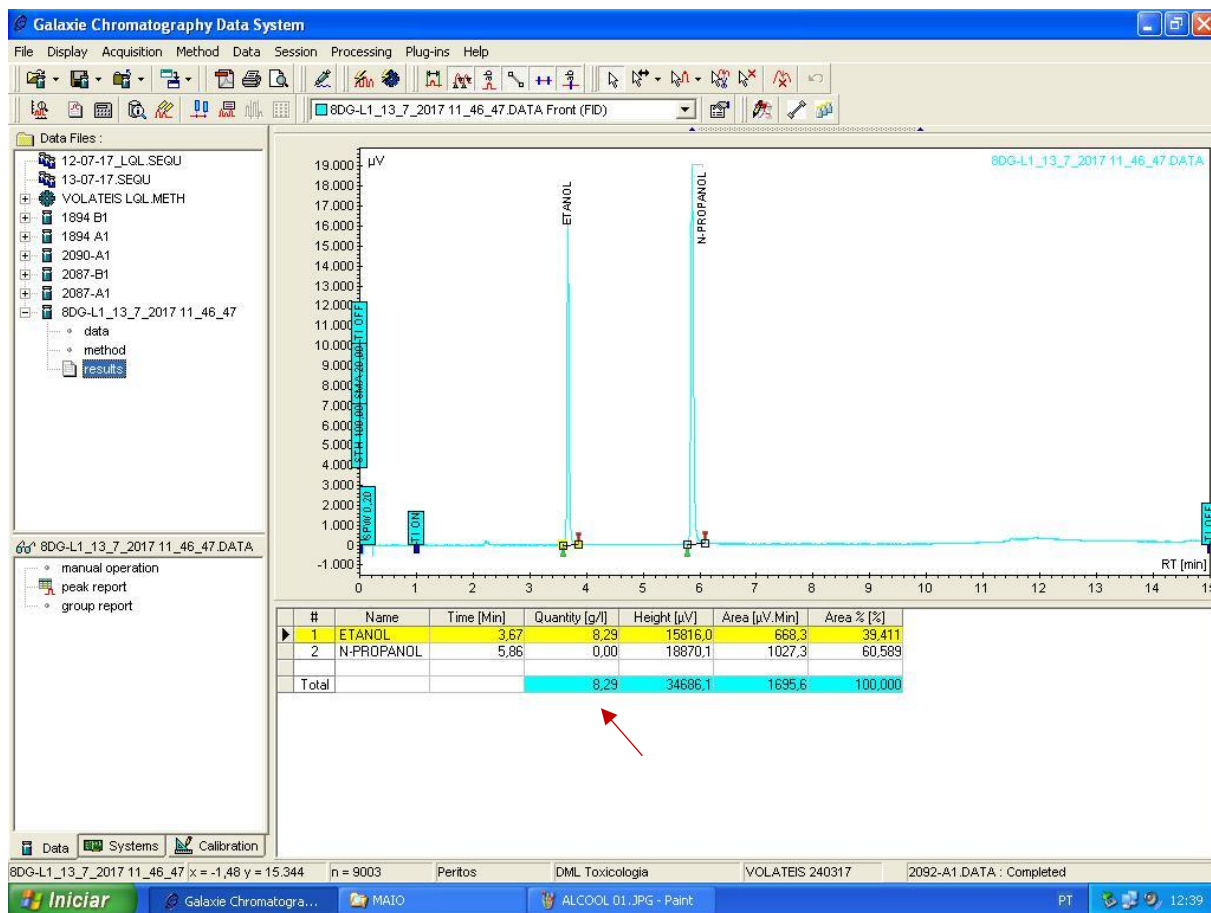


Figura 10 - Cromatograma do n-propranol (PI) e do Etanol, na parte de baixo da figura observa-se o valor dosado.

4.5 Dosagem da cocaína/ e seus metabólitos

As dosagens de cocaína e crack feitas com a extração em fase sólida (SPE) de drogas a partir do sangue foram desenvolvidas e validadas tal como descrito em método padrão no Laboratório de Toxicologia de Vitória.

Nesta SPE utilizou-se o cartucho *Bond Elut Certify* (Agilent) 130 mg/3mL. O primeiro passo é necessário o condicionamento do cartucho. Após este processo é realizada a passagem de 1 mL de sangue total com 6 mL de tampão fosfato com os padrões internos (PI). Depois é necessária a passagem de água e logo em seguida ácido acético diluído para retirada de impurezas e interferentes. Por fim é feita a eluição com solventes orgânicos para a extração da cocaína e seus metabólitos. O procedimento

está ilustrado na figura 11 e descrito em detalhes no Anexo 2. O tempo para a realização desta técnica, contendo 18 amostras, era de aproximadamente 5 a 6 horas. Foram processadas 500 amostras e reprocessadas em torno de 150, perfazendo um total de aproximadamente 650 análises (Anexo 2).

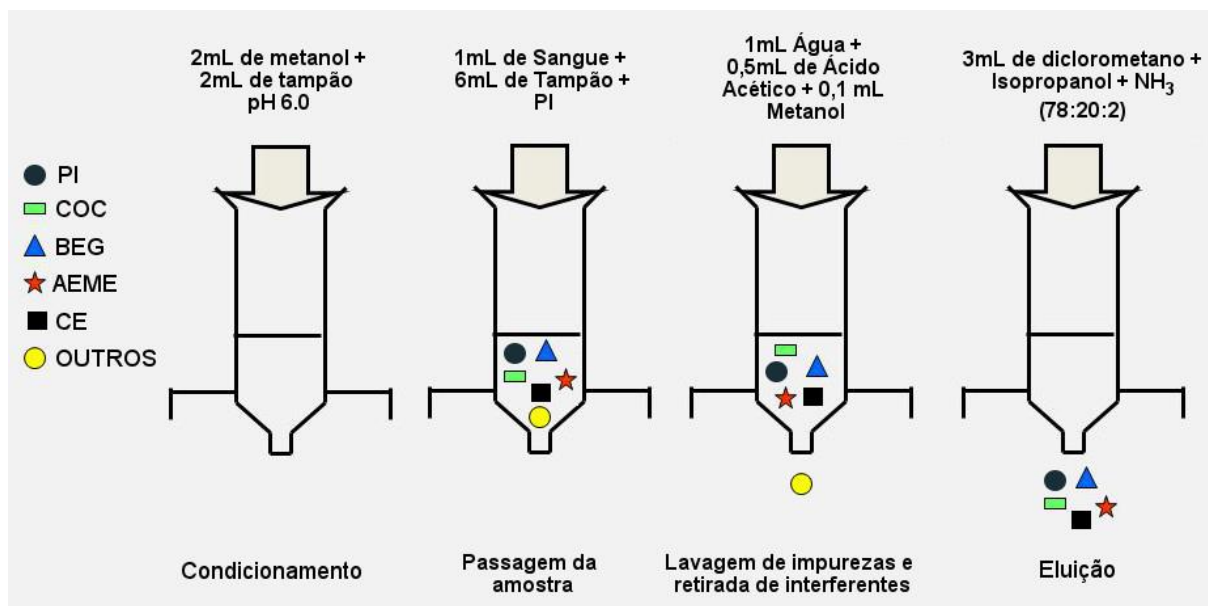


Figura 11 - Processo de extração das drogas do sangue por etapas. PI =Padrão Interno, COC = cocaína, BEG = benzoilecgonina, AEME = Anidroecgonina metil éster, CE = cocaetileno.

Após eluição as amostras são secadas com nitrogênio, e então derivatizadas com 50µL de MSTFA (N-Methyl-N-(trimethylsilyl) Trifluoroacetamida) a uma temperatura de 80°C, por 30 minutos. Os produtos da extração foram analisados em Agilent (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA) modelo GC 7890 cromatógrafo de gás acoplada a um detector seletivo de massa Agilent 5975C Agilent (CG-MS). As drogas incluídas no presente método foram: cocaína (COC), cocaetileno (CE), Anidroecgonina metil éster (AEME) e benzoilecgonina(BEG).

Para se fazer a análise dos compostos no CG-MS, era necessário construir uma curva de calibração de seis pontos para as substâncias, COC, AEME, CE nas

concentrações de 10, 25, 50, 100, 250 e 500 ng/mL e também o padrão interno de COC D3 na concentração de 100 ng/mL. O padrão da BEG foi colocado nas concentrações de 50, 100, 250, 500, 1000 e 2500 ng/mL, e o padrão interno BEG D3 na concentração de 200 ng/mL. É importante relatar que quando a droga a ser dosada passava do ponto mais elevado da curva de calibração, era necessária a diluição da amostra sanguínea, para refazer a extração e análise. A figura 12 mostra a curva de calibração da cocaína.

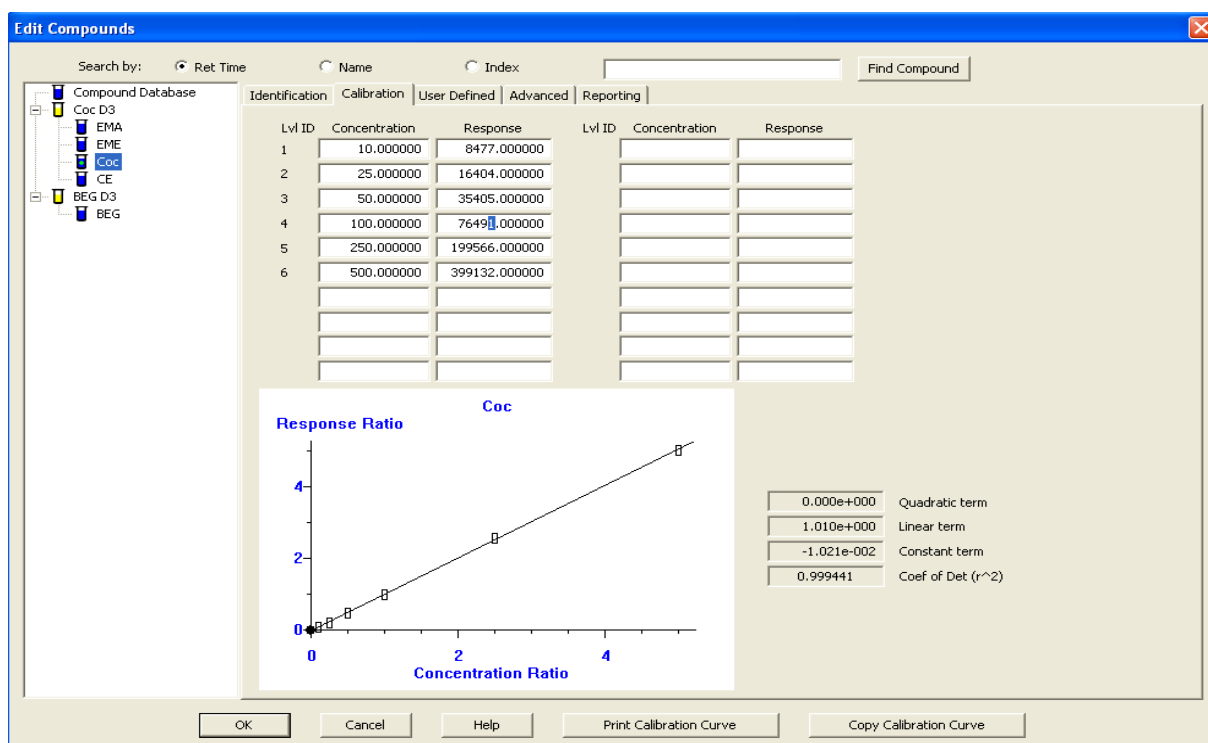


Figura 12 - Curva de calibração cocaína em ng/mL.

Para a análise e detecção das drogas e seus metabólitos e produtos de pirólise, fazemos a análise do cromatograma, detectando e confirmando que se trata da substância em questão, através do tempo de retenção e espectro de massa das substâncias, verificando os íons formados na desfragmentação molecular das substâncias (Tabela 1).

Tabela 1 - Fragmentos de íons das drogas gerados pelo espectrômetro de massas.

COMPOSTOS	ÍON 1	ÍON 2	ÍON 3
Coca D3	185	85	
AEME	152	166	181
COC	182	82	303
CE	196	82	317
BEG D3	243	85	
BEG	240	82	361

O procedimento de análise das substâncias é feito da seguinte forma: realiza-se primeiramente a identificação do padrão interno, e posteriormente análise dos demais compostos em que o CG-MS identifica e quantifica as substâncias (Figura 13).

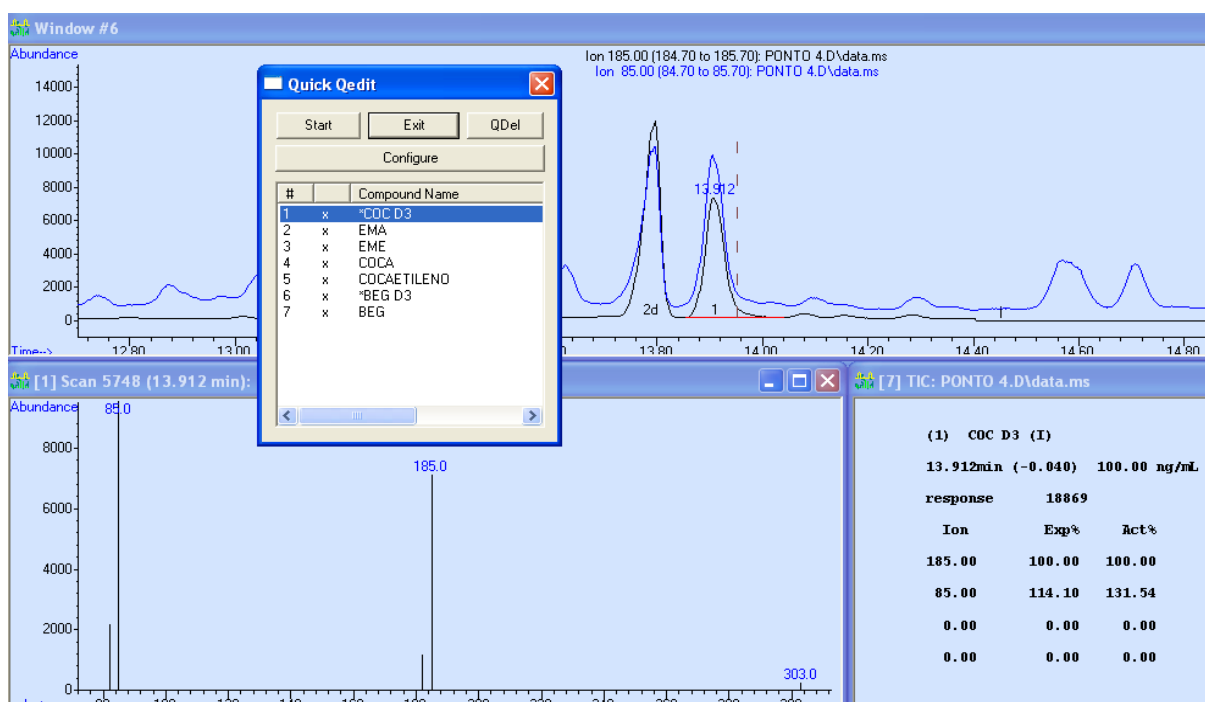


Figura 13 - Cromatograma da COC D3 (PI), e espectro de massa de seus íons.

Uma vez que as vítimas deram entrada no DML (Departamento Médico Legal) foram recolhidos nome, idade, sexo e localização. Todos os dados foram processados no software estatístico SPSS v24.0 (SPSS Inc., EUA) e GraphPad Prism 7.0 (GraphPad

Software Inc., EUA). O fluxograma abaixo (Figura 14) mostra os procedimentos para a obtenção dos dados e do material biológico em vítimas de homicídio. Nível de significância foi considerado em que $P < 0,05$.

Procedimento Geral

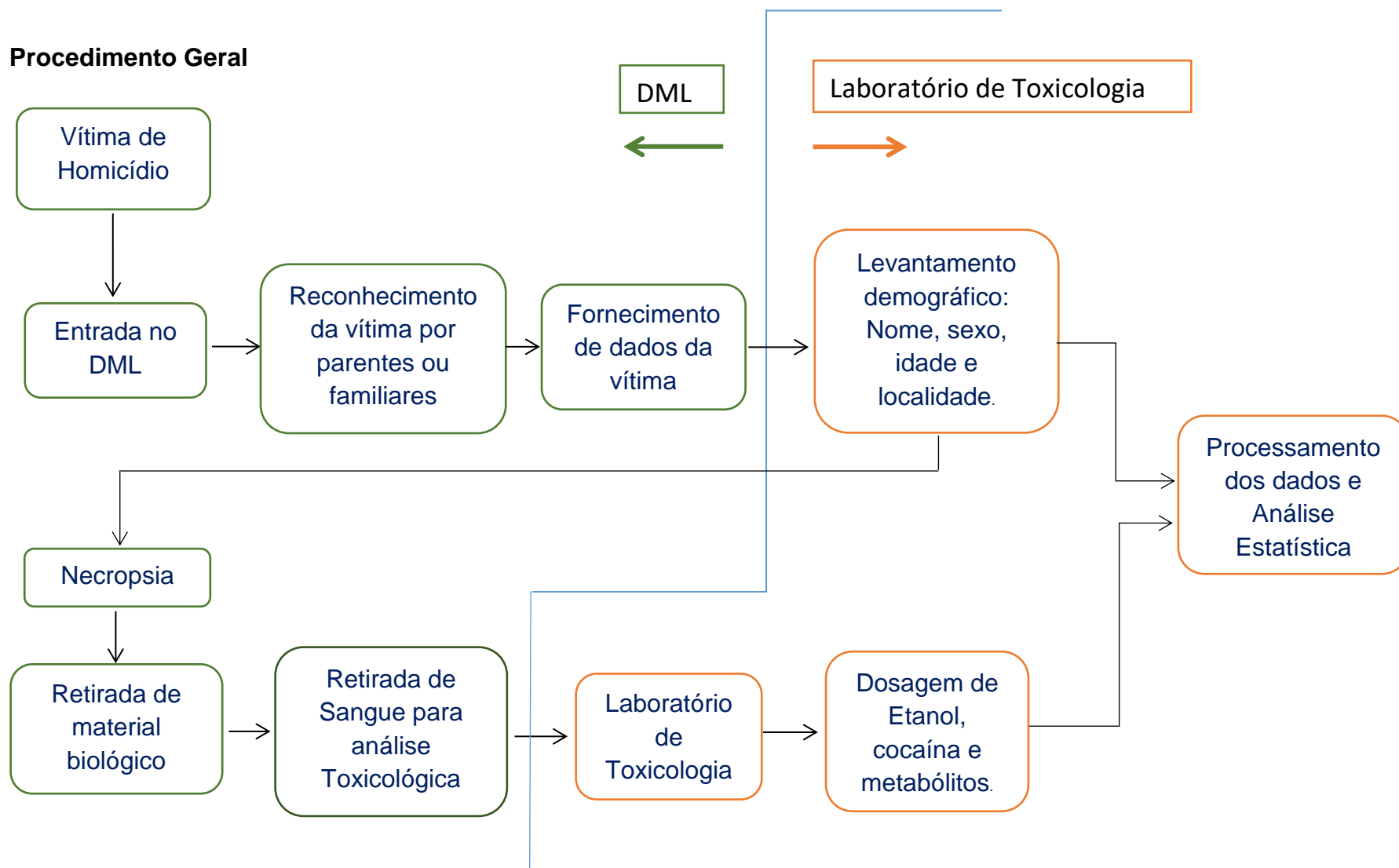


Figura 14 - Procedimento da coleta de material biológico para análise de álcool, cocaína e seus metabólitos das vítimas de homicídios da Região Metropolitana de Vitória. DML = Departamento Médico Legal.

5 RESULTADOS

A quantidade percentual de recolhimento dos corpos das vítimas de homicídios, tem como ordem decrescente (quantidade) de mortes relacionadas por município da seguinte forma: a cidade de Serra vem em primeiro lugar com 34%, seguidos por Vila Velha 23%, Cariacica 21% e a capital do estado Vitória, com 16%. Os municípios de Fundão, Guarapari e Viana somam um resultado percentual de 6% (Figura 15).

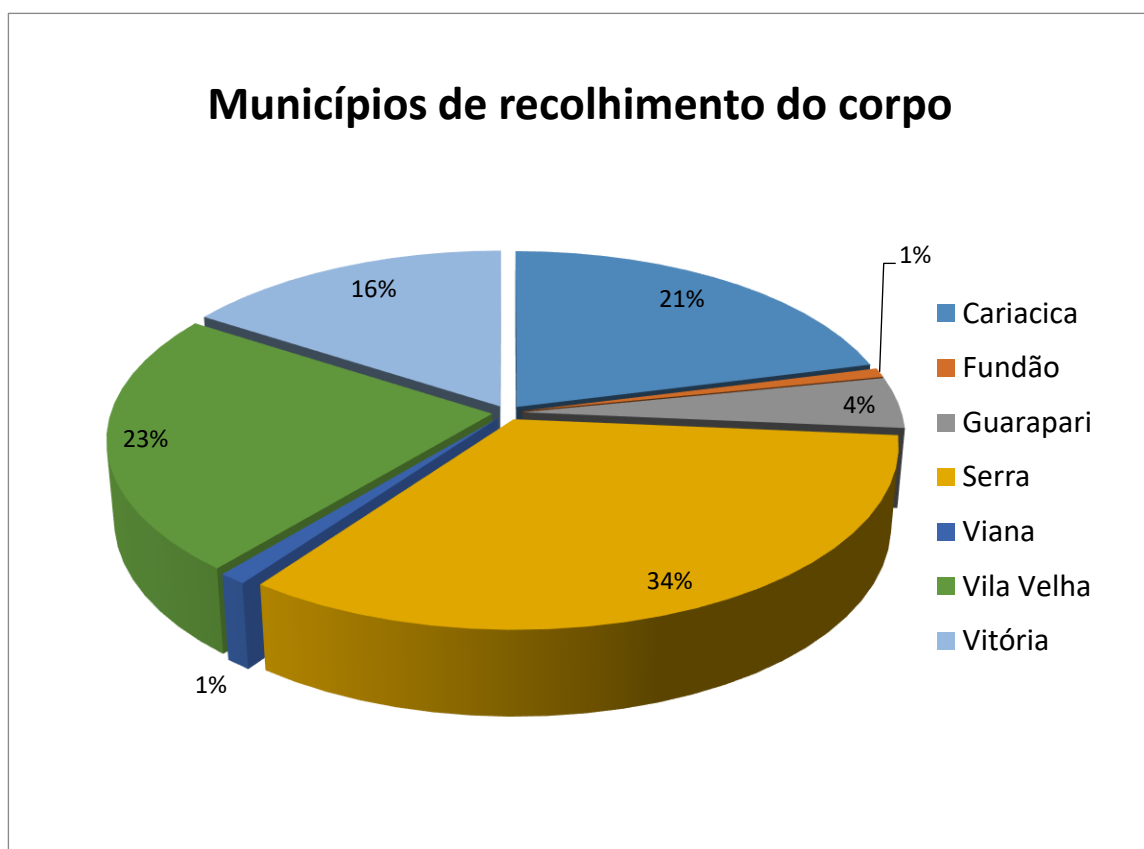


Figura 15 - Quantidade percentual de recolhimento de corpos de vítimas de homicídios da Região Metropolitana de Vitória, ES.

Essas vítimas da Região Metropolitana da Grande Vitória foram predominantemente do sexo masculino (90,93%; 441 casos), sendo que apenas 44 casos (9,07%) foram do sexo feminino. A idade média da amostra total foi de $27,62 \pm 11,30$ anos. A média de idade das vítimas do sexo feminino foi de $28,72 \pm 11,78$ anos e do sexo masculino de $27,51 \pm 11,26$ anos, não havendo diferença estatisticamente significativa na comparação da idade entre gêneros ($t = 0,67$, $P = 0,51$). As idades de cinco casos não foram possíveis de serem determinadas (não possuíam nenhuma documentação e não foram identificados por parentes ou familiares) (Tabela 2).

As armas de fogo foram os principais instrumentos de assassinato nos casos de homicídios, com a porcentagem de 88,7%, seguidos da arma branca 8,7% (facas), sufocamento e espancamento e outros (2,7%). Em relação as raças das vítimas, a cor parda é a mais predominante, com um valor percentual de 84,5%, seguidos da cor branca em 9,1% e negra em 6,4% (Tab. 2).

Uma evidência preocupante em relação à idade foi que a partir da amostra total, 241 (50,2%) vítimas de homicídios eram muito jovens (18 a 30 anos) e, se adicionando os menores de 18 anos, temos 321 vítimas (56,5 % da amostra), e incluindo vítimas entre 31 a 40 anos, temos 413 (85,3%), ou seja, a grande maioria dessa amostra é representada por uma população jovem (Tab. 2).

Em 249 (51,3%) das 485 vítimas, não foram encontradas drogas nas amostras de sangue (Tab. 2). Por outro lado, nas vítimas restantes, 236 (48,7%), pelo menos uma ou duas ou todas drogas investigadas foram encontradas (Tab. 2).

Tabela 2 - Características sociodemográficas das vítimas de homicídios em 2014 na Região Metropolitana da Grande de Vitória, ES e presença (em porcentagem) de álcool, crack / cocaína ou a combinação dessas drogas de acordo com gênero, idade (média e desvio padrão da média - DP), raça e a arma que foi usada na vítima (causa morte).

Características gerais				Somente Positivos (n = 236)				
		Presença de Drogas		Tipos de Drogas*				
	Todos	Negativo	Positivo	Somente Álcool	Somente Cocaína ou Crack	Álcool e Cocaína ou Crack	X ²	Valor de P
Total n (%)	485 (100%)	249 (51,3%)	236 (48,7%)	61 (25,8%)	97 (41,1%)	78 (33,1%)		
Gênero n (%)								
Masculino	441 (90,9%)	229 (51,9%)	212 (48,1%)	55 (25,9%)	85 (40,1%)	72 (34,0%)	1,05	0,59
Feminino	44 (9,1%)	20 (45,5%)	24 (54,5%)	6 (25,0%)	12 (50,0%)	6 (25,0%)		
Idade (Anos)*								
Média (DP)	27,62 (11,3)	24,9 (10,4)	30,6 (11,5)	32,5 (11,6)	27,4 (12,1)	33,0 (9,6)		
Faixa Etária n (%)								
< 18	80 (16,7%)	65 (81,3%)	15 (18,8%)	3 (20,0%)	11 (73,3%)	1 (6,7%)	36,2	< 0,0001
18 - 30	241 (50,2%)	131 (54,4%)	110 (45,6%)	23 (20,9%)	58 (52,7%)	29 (26,4%)		
31 - 40	92 (19,2%)	28 (30,4%)	64 (69,6%)	21 (32,8%)	14 (21,9%)	29 (45,3%)		
41 - 50	48 (10,0%)	17 (35,4%)	31 (64,6%)	9 (29,0%)	5 (16,1%)	17 (54,8%)		
51 - 60	9 (1,9%)	3 (33,3%)	6 (66,7%)	2 (33,3%)	3 (50,0%)	1 (16,7%)		
> 60	10 (2,1%)	4 (40,0%)	6 (60,0%)	2 (33,3%)	4 (66,7%)	0 (0,0%)		
Raça n (%)								
Branco	44 (9,1%)	25 (56,8%)	19 (43,2%)	8 (42,1%)	5 (26,3%)	6 (31,6%)	3,9	0,413
Negro	31 (6,4%)	16 (51,6%)	15 (48,4%)	5 (33,3%)	6 (40,0%)	4 (26,7%)		
Pardo	410 (84,5%)	208 (50,7%)	202 (49,3%)	48 (23,8%)	86 (42,6%)	68 (33,7%)		
Forma da Morte n (%)								
Arma de fogo	430 (88,7%)	234 (54,4%)	196 (45,6%)	49 (25,0%)	90 (45,9%)	57 (29,1%)	16,5	< 0,01
Arma branca	42 (8,7%)	9 (21,4%)	33 (78,6%)	12 (36,4%)	5 (15,2%)	16 (48,5%)		
Outros	13 (2,7%)	6 (46,2%)	7 (53,8%)	0 (0,0%)	2 (28,6%)	5 (71,4%)		

* Não foi possível determinar a idade em cinco casos (vítimas sem identificação).

* As análises estatísticas foram feitas com os dados apenas daqueles que foram positivos para drogas.

Embora em número menor, as vítimas femininas se apresentaram com maior índice de positividade para drogas (54,5%) (Tab. 2), sendo que 50% delas apresentaram crack ou cocaína isoladas ou combinadas com álcool (25%), o que foi ainda maior quando comparado com a população masculina (48,1% foi positivo para drogas com 40,1% deles com crack ou cocaína sem a presença de álcool). No entanto, ao considerar estas amostras de vítimas com positividade para drogas no sangue, a presença de crack ou cocaína foi encontrada em $\frac{3}{4}$ deles, de ambos os sexos, de forma sozinha ou combinadas com álcool.

Ao considerar as amostras de vítimas positivas para drogas, o uso de álcool isolado foi encontrado em 25,8% dos casos, somente cocaína ou crack em 41,1%, e quando analisamos o uso concomitante das drogas (álcool e cocaína ou álcool e crack) encontramos 33,1% dos casos (Tab. 2). Mais uma vez, nota-se que a maior proporção (74,2%) de vítimas com positividade para drogas possuíam no sangue cocaína ou crack isoladas ou combinadas com álcool.

A Tabela 2 também mostra a porcentagem das vítimas que apresentaram álcool sozinho, crack ou cocaína sozinhas, e a combinação dessas drogas com álcool de acordo com gênero, idade, raça e forma de morte usada no homicídio. Em termos de gênero e raça, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes. Deve notar-se, no entanto, que em ambos os sexos, crack e cocaína foram as drogas mais frequentemente encontradas (40,1% para homens e 50% para mulheres), seguido de sua combinação com álcool (Tab. 2).

Ao considerar a idade das vítimas que apresentaram drogas nas amostras sanguíneas, houve diferença estatisticamente significativa na distribuição de drogas em todas as faixas etárias ($p < 0,0001$) possivelmente devido ao alto índice de crack ou cocaína encontrado no extremo das idades (Tab. 2). Nos mais

jovens, menores de 18 anos, as drogas ilícitas foram encontradas em 73,3% deles, e nas idades entre 18 a 30 anos, foram encontrados em 52,7%. No mais velhos, embora em número menor, crack ou cocaína foram encontrados em 66,7% das vítimas acima de 60 anos, e também foram encontrados nas vítimas mais idosas entre 51 a 60 anos, em pequeno número, mas em 50% deles (Tab. 2). Em contraste, em vítimas com idades entre 31 a 40 e 41 a 50 anos, as combinações de cocaína ou crack com álcool foram as mais frequentes (45,3% e 54,8%, respectivamente) (Tab. 2).

Da amostra total dos homicídios a causa de morte mais frequente foi por armas de fogo (88,7%), independentemente da presença de drogas (54,5% das vítimas negativas e 45,6% das positivas), mas as armas brancas (faca) foram mais prevalentes no caso de vítimas que apresentaram positividade para drogas (78,6%) (Tab. 2).

Assim, ao considerar as vítimas que apresentam drogas no sangue, houve uma diferença significativa na forma de morte entre os tipos de drogas encontrados ($p < 0,01$) (Tab. 2). Isso pode ter sido porque as armas de fogo destacam-se como a principal forma em que as vítimas que apresentavam crack ou cocaína isoladas no sangue (45,9%) foram assassinadas, as armas brancas (faca), foram mais frequentes naqueles que apresentavam a combinação dessas drogas com o álcool (48,5%), e também naqueles que apresentaram somente álcool (36,4%). As outras formas de morte (sufocamento ou espancamento), embora em menor número (7 indivíduos), foram principalmente observadas em vítimas que apresentaram crack ou cocaína combinadas com o álcool no sangue (71,4%).

Na tabela 3 são mostradas as quantificações das drogas isoladas, expressas em concentração do etanol (EtOH) em dg/L, cocaína (COC), seu metabólito BEG e o produto de sua pirólise, AEME, em ng/mL.

Do total de 485 vítimas, concentrações de EtOH foram encontradas em 140 delas, independentemente das suas combinações com outras drogas, correspondendo a 28,9% desse total. Das vítimas que apresentaram EtOH no sangue, a concentração média foi de 12,61 dg/L \pm 0,84 (E.P.M.), variando de 1,0 a 42,10 dg/L. Ao considerar as categorias de concentração de álcool (Tab. 3), foram encontradas doses mais baixas de EtOH (até 20 dg / L) em 77,2% dessas vítimas com álcool (Tab. 3), que foi um pouco maior em mulheres (82,7%) que em homens (76,6%). O EtOH acima de 30 dg/L foi encontrado em cerca de 5,7% deles (5,4% em homens e 8,3% em mulheres).

Houve uma diferença significativa entre os gêneros ($p = 0,031$) (Tab. 3) possivelmente porque diferentes proporções de homens e mulheres foram encontradas em diferentes categorias de concentrações de EtOH. Por exemplo, uma maior proporção de vítimas femininas apresentou concentrações de EtOH entre 10 a 20 dg/L (66,7%), enquanto maiores proporções masculinas (50,8%) apresentaram menores concentrações (<10 dg/L) de EtOH. Os homens também foram os que apresentaram uma maior proporção das maiores concentrações (18,0%), entre 20 a 40 dg/L, já nas mulheres as concentrações mais altas de EtOH ficaram entre 30 a 40 dg/L (8,3%).

As concentrações de cocaína foram encontradas em 110 vítimas (22,7% da amostra total), com concentração média de 164,84 ng/mL \pm 17,67 (E.P.M.), variando de 2,91 a 1014 ng/mL.

Ao se considerar as concentrações de cocaína (COC) em categorias (Tab. 3), as concentrações mais baixas no sangue (até 200 ng/mL) foram encontradas em 71,8% das vítimas. A maioria dos homens (75,0%) e menos mulheres (50%) apresentaram esses níveis. Quando consideradas as concentrações até 400 ng/mL, a proporção foi maior, 89,1% dessas vítimas, com 90,6% de homens e 78,6% de mulheres. Poucas vítimas apresentaram concentrações maiores de COC (Tab. 3). Concentrações acima de 400 ng/mL foram encontradas em 10,9% delas, sendo 9,4% de homens e 21,4% das mulheres (Tab. 3). A maior concentração foi encontrada em uma vítima masculina (1014 ng/mL), mas uma vítima feminina também apresentou uma quantidade muito alta, 813,31 ng/mL. O principal metabolito da cocaína, BEG, foi encontrado em 175 vítimas (36,1% da amostra total), com uma concentração média de 955,62 ng/mL \pm 92,86 (E.P.M.), variando de 25,21 a 7.392,41 ng/mL.

Considerando as categorias de concentração de BEG (Tab. 3), houve diferença significativa ao comparar gêneros e diferentes categorias de concentração de BEG ($p < 0,001$), possivelmente porque a maior proporção de mulheres apresentou maiores concentrações desse metabolito no sangue quando comparado aos homens. Concentrações entre 2000 a 6000 ng/mL foram encontradas em 33,4% das mulheres e uma menor proporção de homens (10,8%). Em contraste, uma porcentagem maior de homens (89,2%) e menor porcentagem de mulheres (61,1%) apresentaram concentrações abaixo de

2.000 ng/mL. Houve uma vítima feminina com 7.392,41 ng/mL de BEG em sua amostra sanguínea.

O produto da pirólise da cocaína, AEME, que indica o uso da mesma em forma de crack, foi encontrado em 93 vítimas (19,2% da amostra total), com média de 25,34 ng/mL \pm 2,68 E.P.M., variando entre 0,25 a 152,18 ng/mL ao se considerar as vítimas contendo esse composto em suas amostras. Foram encontradas concentrações de até 40 ng/mL em 88,2% dessas vítimas, 87,5% em homens e 92,3% em mulheres (Tab. 3). Não houve diferenças entre gêneros, mostrando que, embora em menor número, as mulheres também usaram crack. No entanto, concentrações elevadas de AEME (acima de 80 ng/mL) foram encontradas apenas em homens. Um deles mostrou uma quantidade muito alta (152,18 ng/mL) de AEME em sua amostra de sangue.

Tabela 3 - Medidas quantitativas de álcool (EtOH), cocaína (COC), benzoilecgonina (BEG) e anidroecgonina metil éster (AEME) separados por categorias, encontradas em vítimas de homicídios, que apresentaram positividade para drogas em suas amostras sanguíneas no ano de 2014, na Região Metropolitana de Vitória, ES.

Categoria	Frequência*	Gênero		X ₂	Valor de P
		Masculino	Feminino		
<i>EtOH (dg/L) n (%)</i>					
> 0 - 10	67 (47,9%)	65 (50,8%)	2 (16,7%)	10,64	0,031
10 - 20	41 (29,3%)	33 (25,8%)	8 (66,7%)		
20 - 30	24 (17,1%)	23 (18,0%)	1 (8,3%)		
30 - 40	5 (3,6%)	4 (3,1%)	1 (8,3%)		
40 - 50	3 (2,1%)	3 (2,3%)	0 (0,0%)		
Total	140 (100%)	128 (100%)	12 (100%)		
<i>COC (ng/mL) n (%)</i>					
> 0 - 200	79 (71,8%)	72 (75,0%)	7 (50,0%)	6,13	0,19
200 - 400	19 (17,3%)	15 (15,6%)	4 (28,6%)		
400 - 600	8 (7,3%)	6 (6,3%)	2 (14,3%)		
600 - 800	2 (1,8%)	2 (2,1%)	0 (0,0%)		
> 800	2 (1,8%)	1 (1,0%)	1 (7,1%)		
Total	110 (100%)	96 (100%)	14 (100%)		
<i>BEG (ng/mL) n (%)</i>					
> 0 - 2000	151 (86,3%)	140 (89,2%)	11 (61,1%)	19,49	< 0,001
2000 - 4000	16 (9,1%)	13 (8,3%)	3 (16,7%)		
4000 - 6000	7 (4,0%)	4 (2,5%)	3 (16,7%)		
6000 - 8000	1 (0,6%)	0 (0,0%)	1 (5,6%)		
Total	175 (100%)	157 (100%)	18 (100%)		
<i>AEME (ng/mL) n (%)</i>					
> 0 - 40	82 (88,2%)	70 (87,5%)	12 (92,3%)	1,16	0,76
40 - 80	5 (5,4%)	4 (5,0%)	1 (7,7%)		
80 - 120	5 (5,4%)	5 (6,3%)	0 (0,0%)		
120 - 160	1 (1,1%)	1 (1,3%)	0 (0,0%)		
Total	93 (100%)	80 (100%)	13 (100%)		

* Foi considerada cada medida da droga ou metabólito encontrado independentemente da multiplicidade destas em cada amostra, ou seja, uma vítima poderia ter uma ou mais drogas ou metabólito no sangue.

Ao considerar a média \pm E.P.M. de quantidades de drogas por faixa etária (Fig. 16), pode notar-se que, em vítimas de homicídios que apresentaram drogas em suas amostras sanguíneas (Fig. 16A), as maiores quantidades de EtOH foram observadas em vítimas adultas (entre 31 a 60 anos), diminuindo nos mais idosos (> 60 anos). Este perfil foi semelhante em homens (Fig. 16B), considerando que a maioria da amostra foi constituída por este gênero, e bem semelhante nas mulheres, embora não se tenha encontrado EtOH em mulheres acima de 51 anos (Fig. 16C).

As quantidades de COC pareciam ser maiores em vítimas muito jovens (< 18 anos) (Fig. 16A), mas provavelmente por causa de uma vítima feminina que mostra uma quantidade de COC (534,34 ng/mL) muito alta em seu sangue (Fig. 16C). Houve outra vítima feminina com 45 anos de idade com concentração elevada de COC (813,31 ng/mL) produzindo um pico da concentração de cocaína observada na Figura 16C.

As concentrações de BEG foram maiores em idade variando de 31 a 40 anos e acima de 60 anos (Fig. 16A), que foi semelhante entre os homens (Fig. 16B) e também nas mulheres (Fig. 16C). No sexo feminino nessa faixa etária, no entanto, a BEG foi encontrada muito alta em quatro mulheres (Fig. 16C) (média de 4.844,83 ng/mL \pm 971,5 E.P.M.), que foi muito maior comparada às vítimas masculinas da mesma faixa etária (média de 973,09 ng/mL \pm 178,2 E.P.M) (Fig. 16B). Por conseguinte, a proporção significativamente maior de BEG encontrada em vítimas femininas na Tabela 3 foi possivelmente em mulheres adultas entre 31 a 40 anos em comparação com vítimas masculinas na mesma faixa etária.

As concentrações elevadas de AEME foram observadas principalmente em adultos jovens e adultos de 18 a 50 anos diminuindo substancialmente em

adultos de idade mais avançada, acima de 51 anos (Fig. 16A). Este padrão é similar nos homens (Fig. 16B) e um pouco menor nas mulheres (Fig. 16C).

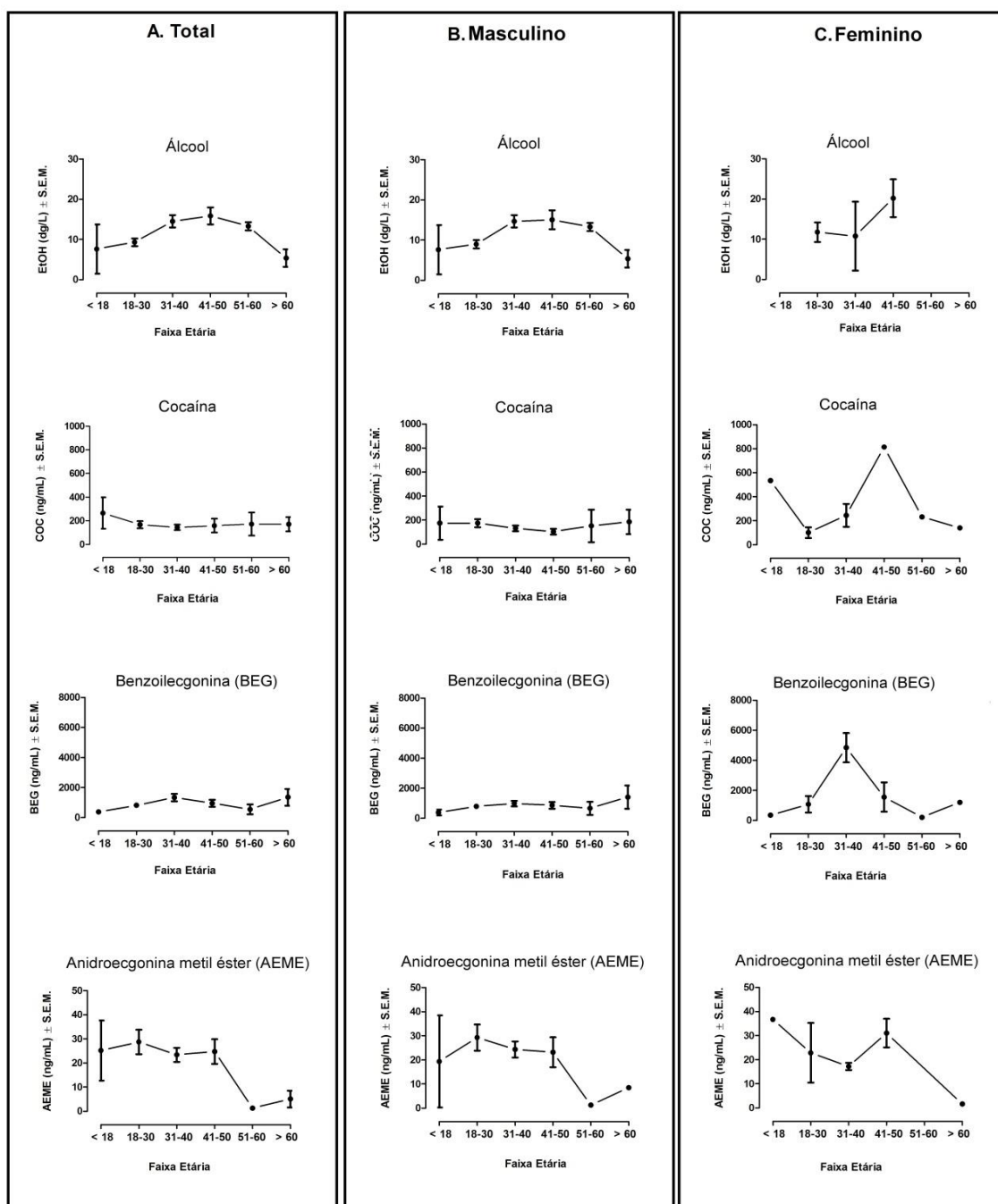


Figura 16 - Concentrações (média \pm E.P.M.) de álcool (EtOH), em dg/L, de cocaína (COC) e BEG: Benzoilecgonina; AEME: Anidroecgonina Metil Éster), em ng/mL, em amostras de sangue de vítimas de homicídios em 2014 na Região Metropolitana da Grande Vitória, ES, dados da amostra total com positividade para drogas (A: n = 236), separadas por gênero, masculino (B: n = 212) e feminino (C: n = 24).

DISCUSSÃO

No Brasil, a população que é considerada jovem varia entre 15 a 29 anos, e os não jovens são abaixo dos 15 e acima de 30 anos. A partir do ano de 2003 foi criado o Estatuto do Desarmamento (Lei Nº 10.826, de 22 de dezembro de 2003) com intuito de diminuir as mortes por armas de fogo. Quando analisamos o impacto desta lei ao longo destes anos, verificamos que somente nos primeiros anos em que foi efetivada, houve uma diminuição de 15% dos homicídios. Mas, se compararmos o número de mortes por habitantes entre 2003 a 2012 houve um aumento de 198,8% e o número de jovens de 272,6%.

No Estado do Espírito Santo, morreram cinco jovens para cada um não jovem no ano de 2012, alcançando 395% se comparado ao *ranking* nacional, sendo a unidade federativa que mais mata jovens em todo o Brasil (WAISELFISZ, 2015). Quando observamos a ordem de recolhimento dos corpos das vítimas de homicídios observados na figura 15, praticamente coincidem com a ordem da grandeza populacional destes municípios. Segundo o censo de 2010 do IBGE – (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) os municípios apresentam o seguinte número: Serra com 409.267 de habitantes, Vila Velha com 414.586 de habitantes, Cariacica 348.738 de habitantes, Vitória 327.801 de habitantes, Guarapari 105.286 de habitantes, Viana 65.001 e Fundão 17.025 de habitantes, mostrando que o município de Serra vem em segundo lugar em comparação com o município de Vila Velha em número populacional, mas, apresentando uma diferença de 11% a mais no recolhimento das vítimas de assassinato.

Segundo pesquisa recente o município de Serra é o 28º colocado no Brasil em mortes por armas de fogo considerando uma média dos anos de 2012 a 2014.

No ano de 2014, o Estado do Espírito Santo, aparece em segundo lugar na posição nacional em homicídios por arma de fogo entre menores de 1 a 14 anos, e o quinto entre jovens de 15 a 29 anos de idade (WAISELFISZ, 2016). O presente estudo mostra que os jovens foram as vítimas de homicídios mais frequentes na Região Metropolitana de Grande Vitória do ES em 2014, independentemente da presença de drogas.

O uso de cocaína, crack e álcool foram encontrados em um grande número (48,7%) de vítimas da amostra de homicídios examinadas neste trabalho. De acordo com a Secretaria de Segurança Pública do Estado do Espírito Santo em 2014 cerca de 1005 (mil e cinco) vítimas de assassinato foram registradas na Região Metropolitana da Grande Vitória ES e dessas 1005 vítimas, foram colhidas 485 amostras de sangue para análise. Diante das amostras que foram examinadas, quase metade era positiva para algum tipo de droga pesquisada (álcool, cocaína ou crack), mostrando que essas vítimas podem ter consumido uma delas ou a combinação dessas drogas.

As armas de fogo foram predominantemente as mais utilizadas (88,7%) pelos criminosos, sendo que a população mais jovem foi claramente a mais afetada.

O consumo das bebidas alcoólicas está diretamente relacionado a vários conflitos sociais, trazendo sérias consequências tanto para o indivíduo, quanto para as pessoas e o território que o circunda (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006). Embora a relação entre o consumo de álcool e a violência seja extremamente complexa (HIGLEY, 2001; MOROJELE; BROOK, 2006), existe uma associação entre os indivíduos alcoolizados e a participação em homicídios, suicídios, violência doméstica, crimes sexuais e acidentes de trânsito (DINH-ZARR et al., 2004; FRANKLIN et al., 2010; LI; BRADY; CHEN,

2013). Há estudos demonstrando que quantidades elevadas do álcool podem aumentar a gravidade da violência, existindo uma diferença entre os gêneros, sendo o comportamento compulsivo (dificuldade cognitiva, agressividade e violência) mais prevalente em homens (SCHEFFER; MARIA; ALMEIDA, 2010; WELLS et al., 2003).

No que diz respeito às drogas ilícitas, pesquisas que examinam o perfil do consumo de drogas no Brasil revelaram consistentemente que a cocaína e o crack estão altamente envolvidas na violência e na criminalidade. Este fato foi particularmente evidente em vítimas masculinas jovens no presente estudo.

A maioria dessa população de usuários de drogas tem um baixo nível educacional e uma estrutura familiar frágil (MOURA et al., 2014; VAUGHN et al., 2010). Esses fatos também podem corresponder ao perfil de nossas vítimas, embora essas características não tenham sido coletadas devido às circunstâncias. Há evidências de que o transtorno de personalidade antissocial é mais frequentemente observado em usuários de crack, quando comparado com aqueles que só usam cocaína (PAIM KESSLER et al., 2012); assim, eles parecem estar mais inclinados a se envolver em crimes. Os usuários de crack também costumam consumir outras drogas psicoativas após o uso da droga (SANTOS CRUZ et al., 2013; VAUGHN et al., 2010). Em geral, essas drogas ilícitas são usadas com frequência na adolescência e podem ser substituídas por drogas lícitas, como álcool e tabaco, na idade adulta (JORGE et al., 2013).

Na América Latina, como no Caribe, a cocaína continua a ser um enorme fardo para a sociedade (UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME, 2015). Muitos estudos realizados em 2014 colocaram o Brasil como um dos maiores consumidores mundiais de cocaína (ABDALLA et al., 2014). Nos casos de

homicídio, a cocaína e o crack são as drogas mais frequentemente envolvidas (DARKE; DUFLOU; TOROK, 2009; GOLDSTEIN, 1985), seja por seu uso ou pelo seu tráfico. Outros fatores para esses assassinatos são as formas de funcionamento dos grupos criminosos e as respostas dadas pelas autoridades responsáveis pela aplicação da lei contra a ação desses grupos, este fato contribui para determinar a taxa de homicídio no tráfico de drogas (UNODC, 2013).

Diferentemente do álcool, que teve maior concentração encontrada em vítimas adultas em nossa amostra, o crack foi a droga mais amplamente utilizada pelos jovens, devido à maior quantidade de AEME encontrada em idades jovens, de menos de 18 a 30 anos. A evidência do consumo de crack foi ainda maior que a cocaína nessa faixa etária, uma vez que a cocaína apresentou maior concentração na faixa etária superior, de 31 a 40 anos. Embora as combinações de cocaína/álcool ou crack/álcool tenham sido encontradas mais frequentemente em vítimas adultas (de 31 a 50), essas associações também foram observadas em idades de faixa etária anterior (de 18 a 30 anos). De fato, o uso da combinação de drogas (álcool e cocaína ou crack) é maior que o uso de álcool isolado, nesta faixa etária.

Deve-se mencionar que a combinação de álcool e cocaína ou crack produz altos níveis de CE, um metabolito neurotóxico. Embora esta substância seja menos psicoativa que a cocaína, pode se difundir melhor através dos tecidos cerebrais e ter mais efeitos tóxicos de longo prazo e está associada a consequências cardiovasculares e comportamento violento (FAROOQ; BHATT; PATEL, 2009; MCCANCE-KATZ; KOSTEN; JATLOW, 1998; MCCANCE et al., 1995).

Ao analisar a quantidade de drogas em amostras de sangue, deve-se considerar que o EtOH de 35 a 45 dg/L são concentrações altamente tóxicas, nas quais podem ocorrer dificuldades respiratórias, cardiovasculares, seguido de coma. A morte com parada respiratória pode ocorrer acima de 45 dg/L (LEVINE, 2003). Em nossa amostra, cerca de 5,7% das vítimas que apresentaram EtOH em seu sangue (5,4% em homens e 8,3% em mulheres) foram encontradas com EtOH em níveis de provável intoxicação alcoólica. A maioria das vítimas positivas para álcool apresentaram concentrações abaixo do risco de intoxicação por álcool.

No que diz respeito à cocaína, 250 a 500 ng/mL e acima são geralmente consideradas quantidades tóxicas. Dependendo das condições de cada indivíduo e à tolerância aos seus efeitos, concentrações em torno de 1000 ng/mL são consideradas letais.

Considerando estes parâmetros, no presente estudo, cerca de 10% das vítimas que apresentaram cocaína no sangue, apresentaram quantidades tóxicas. Deve-se notar que as mulheres apresentaram proporcionalmente maior risco de ter intoxicação por cocaína. Embora a BEG seja um metabolito inativo, sua presença no sangue e suas concentrações denotam o uso e a extensão desse uso, e este metabolito foi encontrado em quantidades significativamente maiores nas mulheres.

Em um estudo de toxicologia foi demonstrado que seis homens com história de abuso de cocaína, quando administrados uma dose única de 25 mg intravenosa de cloridrato de cocaína, apresentaram uma concentração máxima de 775 ng/mL de cocaína 3,9 h após a administração, enquanto uma concentração máxima de BEG (15.611 ng/mL) foi observada 5,6 h depois (ANTHONY C MOFFAT, M

DAVID OSSELTON, 2011). As quantidades de cocaína e BEG encontradas nas vítimas no presente estudo, foram compatíveis com essas medidas.

Neste estudo também foi mencionado que cinco usuários de crack que fumaram 42 mg da base de cocaína, apresentaram um pico de concentração de cocaína (707 ng/mL) 2,6 h após o uso, sendo que as concentrações de BEG no pico (4,1 h depois) foram de 9,395 ng/mL e a concentração máxima de AEME de 23 ng/mL foi observada 2,3 h após a sua inalação (ANTHONY C MOFFAT, M DAVID OSSELTON, 2011).

O AEME em quantidades mais elevadas foi encontrado mais frequentemente em vítimas masculinas e menos em mulheres, mas em ambos os sexos foi encontrado mais frequentemente em concentrações pequenas (menos de 40 ng/mL). Este é um produto ativo da pirólise da cocaína e sabe-se que a sua neurotoxicidade é maior do que a própria cocaína (GARCIA et al., 2012, 2015). No entanto, ainda não existem estudos que estabeleçam as suas concentrações tóxicas. Este é um problema que precisa ser cuidadosamente analisado em estudos futuros.

Deve ser apontado que, embora houvesse menos vítimas femininas, as mulheres aparentemente usavam cocaína em níveis muito elevados, um pouco menos de crack e álcool em níveis moderados, especialmente entre 31 e 50 anos, voluntariamente ou não. Também precisamos considerar que, devido ao metabolismo mais lento, principalmente devido a maior distribuição de gordura corporal (ANDERSON, 2008), as substâncias costumam demorar mais para serem eliminadas nas mulheres. O seu metabolismo também pode ser mais lento por causa da idade, já que as mulheres usuárias eram mais velhas. Seja qual for

o motivo, a alta concentração dessas drogas tem efeitos potencialmente mais perigosos nas mulheres.

Com base nas características descritas anteriormente, as mulheres, em geral, usam drogas ilícitas em uma idade muito posterior do que os homens. Um estudo mostrou que elas também são influenciadas por seus namorados ou esposos (BRADY; RANDALL, 1999). Elas são frequentemente submetidas ao trabalho sexual para manter a sua dependência, para sustentar o próprio consumo ou o consumo dos seus parceiros (BERTONI et al., 2014) e, por consequência, o uso de crack tem sido associado ao sexo desprotegido com múltiplos parceiros, com alto risco de contrair e propagar doenças sexualmente transmissíveis (RAMIRO; PADOVANI; TUCCI, 2014).

CONCLUSÕES

As vítimas de homicídios da Região Metropolitana de Vitória do ES que faz parte da Região Sudeste do Brasil, no ano de 2014, foram massivamente constituídas por jovens do sexo masculino. As vítimas femininas e mais idosas foram em número menor.

Não podemos garantir quais foram as causas de todos esses homicídios, mas o envolvimento de drogas lícitas, como álcool e notadamente, cocaína e o crack (drogas ilícitas) estavam presentes e algumas delas em concentrações muito altas.

O uso dessas drogas foi evidente em quase metade das vítimas de homicídios, na maioria em homens, mas também foram importantes nas mulheres, corroborando a evidência da associação do uso excessivo de drogas e crimes, envolvendo jovens e mulheres de uma forma preocupante.

6 REFERÊNCIAS

ABDALLA, R. R. et al. Prevalence of Cocaine Use in Brazil: Data from the II Brazilian National Alcohol and Drugs Survey (BNADS). **Addictive Behaviors**, v. 39, n. 1, p. 297–301, 2014.

ANDERSON, G. D. Chapter 1 Gender Differences in Pharmacological Response. In: [s.l: s.n.]. p. 1–10.

ANDREUCCETTI, G. et al. Alcohol consumption in homicide victims in the city of São Paulo. **Addiction**, v. 104, n. 12, p. 1998–2006, dez. 2009.

ANTHONY C MOFFAT, M DAVID OSSELTON, B. W. **Clarke's Analysis of Drugs and Poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material**. [s.l.] Pharmaceutical Press, 2011.

ANVISA, A. N. DE V. S. **No Title**. Disponível em: <<http://www.anvisa.org.br>>. Acesso em: 26 jan. 2010.

BAILEY, B. J. Looking back at a century of cocaine--use and abuse. **The Laryngoscope**, v. 106, n. 6, p. 681–3, jun. 1996.

BELELLI, D. et al. Extrasynaptic GABAA receptors: form, pharmacology, and function. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 29, n. 41, p. 12757–63, 14 out. 2009.

BENOWITZ, N. L. How toxic is cocaine? **Ciba Foundation symposium**, v. 166, p. 125-43–8, jan. 1992.

BERTONI, N. et al. Exploring sex differences in drug use, health and service use characteristics among young urban crack users in Brazil. **International Journal for Equity in Health**, v. 13, n. 1, p. 70, 2014.

BRADY, K. T.; RANDALL, C. L. Gender differences in substance use disorders. **The Psychiatric clinics of North America**, v. 22, n. 2, p. 241–52, jun. 1999.

BRIASOULIS, A.; AGARWAL, V.; MESSERLI, F. H. Alcohol consumption and the risk of hypertension in men and women: a systematic review and meta-analysis. **Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)**, v. 14, n. 11, p. 792–8, nov. 2012.

CAETANO, R. et al. The distribution of alcohol consumption and the prevention paradox in Brazil. **Addiction (Abingdon, England)**, v. 107, n. 1, p. 60–8, jan. 2012.

CAETANO, R. et al. Patrones de consumo de alcohol y problemas asociados en Brasil. **Addiciones**, v. 25, n. 4, p. 287–293, 2013.

CEBRID - Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas. VI Levantamento Nacional sobre o consumo de drogas Psicotrópicas entre Estudante da rede de Ensino fundamental e Médio das redes Pública e Privada de ensino das 27 capitais do ano de 20. BRASILIA:SENAD, 2010.

CHAKKO, S.; MYERBURG, R. J. Cardiac complications of cocaine abuse. **Clinical cardiology**, v. 18, n. 2, p. 67–72, fev. 1995.

COUTINHO, E. S. F. et al. ERICA: Patterns of alcohol consumption in Brazilian adolescents. **Revista de Saude Publica**, v. 50, n. supl 1, p. 1s–9s, 2016.

DARKE, S.; DUFLOU, J.; TOROK, M. Drugs and violent death: Comparative toxicology of homicide and non-substance toxicity suicide victims. **Addiction**, v. 104, n. 6, p. 1000–1005, 2009.

DINH-ZARR, T. et al. Interventions for preventing injuries in problem drinkers. **Cochrane database of systematic reviews (Online)**, n. 3, p. CD001857, jan. 2004.

DUALIBI, L. B.; RIBEIRO, M.; LARANJEIRA, R. Profile of cocaine and crack users in Brazil. **Cadernos de saúde pública**, v. 24 Suppl 4, p. s545-57, jan. 2008.

ESCOBEDO, L. G. et al. Emerging patterns of cocaine use and the epidemic of cocaine overdose deaths in Dade County, Florida. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 115, n. 9, p. 900–5, set. 1991.

FARIA, M. G. C. et al. Verificação do uso de drogas por vítimas de mortes

violentas na região da grande Vitória/ES. In: **Violência e Contemporaneidade – Dimensões da pesquisa e impactos sociais**. Vitória-ES: Grafita Gráfica e Editora NEVI-UFES, 2007.

FAROOQ, M. U.; BHATT, A.; PATEL, M. B. Neurotoxic and cardiotoxic effects of cocaine and ethanol. **Journal of Medical Toxicology**, v. 5, n. 3, p. 134–138, 2009.

FLOREZ, J. **Farmacologia Humana - 3 Ed. (Spanish Edition)**. Barcelona: Masson, 1998.

FRANKLIN, F. A. et al. Alcohol outlets and violent crime in washington d.C. **West J Emerg Med**, v. 11, n. 3, p. 283–290, 2010.

GARCIA, R. C. T. et al. Neurotoxicity of anhydroecgonine methyl ester, a crack cocaine pyrolysis product. **Toxicological Sciences**, v. 128, n. 1, p. 223–234, 2012.

GARCIA, R. C. T. et al. M1 and M3 muscarinic receptors may play a role in the neurotoxicity of anhydroecgonine methyl ester, a cocaine pyrolysis product. **Scientific Reports**, v. 5, n. November, p. 17555, 2015.

GATELY, I. **A Cultural History of Alcohol**. 1 Edição, Gotham Books 2008.

GOLDSTEIN, P. J. The Drugs/Violence Nexus: A Tripartite Conceptual

Framework. **Journal of Drug Issues**, v. 39, n. 1980, p. 143–174, 1985.

GUO, L. et al. Alcohol use and alcohol-related problems among adolescents in China. v. 0, n. June, 2016.

HAAS, L. F. Coca shrub (*Erythroxylum coca*). **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 59, n. 1, p. 25–25, 1995.

HART, C. L. et al. Comparison of intravenous cocaethylene and cocaine in humans. **Psychopharmacology**, v. 149, n. 2, p. 153–62, abr. 2000.

HIGLEY, J. D. Individual differences in alcohol-induced aggression. A nonhuman-primate model. **Alcohol research & health: the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism**, v. 25, n. 1, p. 12–9, jan. 2001.

HOLLANDER, J. E. et al. Cocaine-associated myocardial infarction. Mortality and complications. Cocaine-Associated Myocardial Infarction Study Group. **Archives of internal medicine**, v. 155, n. 10, p. 1081–6, 22 maios 1995.

JANG, H.-D. et al. Relationship between bone mineral density and alcohol intake: A nationwide health survey analysis of postmenopausal women. **PloS one**, v. 12, n. 6, p. e0180132, 2017.

JORGE, M. S. B. et al. Ritual de consumo do crack: aspectos socioantropológicos e repercussões para a saúde dos usuários. **Ciênc. saúde**

coletiva, v. 18, n. 10, p. 2909–2918, 2013.

KARCH, S. B. The history of cocaine toxicity. **Human pathology**, v. 20, n. 11, p. 1037–9, nov. 1989.

KARCH, S. B. Cocaine: history, use, abuse. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 92, n. 8, p. 393–397, 1999.

LEVINE, B. **Principles of Forensic Toxicology**. Segunda edição, American Association for Clinical Chemistry Staff, 2006.

LI, G.; BRADY, J. E.; CHEN, Q. Drug use and fatal motor vehicle crashes: A case-control study. **Accident Analysis and Prevention**, v. 60, p. 205–210, 2013.

LIBERTY, H. J. et al. Detecting crack and other cocaine use with fastpatches. **Addiction biology**, v. 8, n. 2, p. 191–200, jun. 2003.

LITTLE, K. Y. et al. Loss of striatal vesicular monoamine transporter protein (VMAT2) in human cocaine users. **The American journal of psychiatry**, v. 160, n. 1, p. 47–55, jan. 2003.

LONGO, L. P.; CAMPBELL, T.; HUBATCH, S. Divalproex sodium (Depakote) for alcohol withdrawal and relapse prevention. **Journal of addictive diseases**, v.

21, n. 2, p. 55–64, jan. 2002.

MACÊDO, D. S. et al. Cocaine-induced status epilepticus and death generate oxidative stress in prefrontal cortex and striatum of mice. **Neurochemistry international**, v. 56, n. 1, p. 183–7, jan. 2010.

MADRUGA, C. S. et al. Use of licit and illicit substances among adolescents in Brazil--a national survey. **Addictive behaviors**, v. 37, n. 10, p. 1171–5, out. 2012.

MARKEL, H. Über coca: Sigmund Freud, Carl Koller, and cocaine. **JAMA**, v. 305, n. 13, p. 1360–1, 6 abr. 2011.

MCCANCE-KATZ, E. F.; KOSTEN, T. R.; JATLOW, P. Concurrent use of cocaine and alcohol is more potent and potentially more toxic than use of either alone--a multiple-dose study. **Biological psychiatry**, v. 44, n. 4, p. 250–9, 15 ago. 1998.

MCCANCE, E. F. et al. Cocaethylene: pharmacology, physiology and behavioral effects in humans. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 274, n. 1, p. 215–23, jul. 1995.

MOLITERNO, D. J. et al. Influence of intranasal cocaine on plasma constituents associated with endogenous thrombosis and thrombolysis. **The American journal of medicine**, v. 96, n. 6, p. 492–6, jun. 1994.

MORAES FERREIRA, V. M.; MORATO, G. S. D-cycloserine blocks the effects of ethanol and HA-966 in rats tested in the elevated plus-maze. **Alcoholism, clinical and experimental research**, v. 21, n. 9, p. 1638–42, dez. 1997.

MOROJELE, N. K.; BROOK, J. S. Substance use and multiple victimisation among adolescents in South Africa. **Addictive behaviors**, v. 31, n. 7, p. 1163–76, jul. 2006.

MOURA, H. F. et al. Crack/cocaine users show more family problems than other substance users. **Clinics (São Paulo, Brazil)**, v. 69, n. 7, p. 497–9, 2014.

MURIACH, M. et al. Cocaine causes memory and learning impairments in rats: involvement of nuclear factor kappa B and oxidative stress, and prevention by topiramate. **Journal of neurochemistry**, v. 114, n. 3, p. 675–84, ago. 2010.

OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003.

PAIM KESSLER, F. H. et al. Crack Users Show High Rates of Antisocial Personality Disorder, Engagement in Illegal Activities and Other Psychosocial Problems. **The American Journal on Addictions**, v. 21, n. 4, p. 370–380, jul. 2012.

PARRY, C. D.; PATRA, J.; REHM, J. Alcohol consumption and non-communicable diseases: epidemiology and policy implications. **Addiction (Abingdon, England)**, v. 106, n. 10, p. 1718–24, out. 2011.

PAUL, B. D. et al. Concentration profiles of cocaine, pyrolytic methyl ecgonidine and thirteen metabolites in human blood and urine: determination by gas chromatography-mass spectrometry. **Biomedical chromatography : BMC**, v. 19, n. 9, p. 677–88, nov. 2005.

PELIÇÃO, F. S. et al. Predominance of Alcohol and Illicit Drugs among Traffic Accidents Fatalities in an Urban Area of Brazil. **Traffic injury prevention**, 18 fev. 2016.

PETERSON, K. L.; LOGAN, B. K.; CHRISTIAN, G. D. Detection of cocaine and its polar transformation products and metabolites in human urine. **Forensic science international**, v. 73, n. 3, p. 183–96, 21 jun. 1995.

POZNER, C. N.; LEVINE, M.; ZANE, R. The cardiovascular effects of cocaine. **The Journal of emergency medicine**, v. 29, n. 2, p. 173–8, ago. 2005.

RAMIRO, F. DE S.; PADOVANI, R. DA C.; TUCCI, A. M. Consumo de crack a partir das perspectivas de gênero e vulnerabilidade: uma revisão sobre o fenômeno. **Saúde debate**, v. 38, n. 101, p. 379–392, 2014.

REHM, J. et al. Quantifying the contribution of alcohol to cardiomyopathy: A systematic review. **Alcohol**, v. 61, p. 9–15, 2017.

REPORT, R.; WORLD, W. **United Nations Office on Drugs and Crime, World Drug Report 2016**, 2016.

RINDER, H. M. et al. Platelet alpha-granule release in cocaine users. **Circulation**, v. 90, n. 3, p. 1162–7, 1 set. 1994.

RITZ, M. C. et al. Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. **Science (New York, N.Y.)**, v. 237, n. 4819, p. 1219–23, 4 set. 1987.

SANTOS CRUZ, M. et al. Key drug use, health and socio-economic characteristics of young crack users in two Brazilian cities. **International Journal of Drug Policy**, v. 24, n. 5, p. 432–438, 2013.

SCHEFFER, M.; MARIA, R.; ALMEIDA, M. DE. Consumo de álcool e diferenças entre homens e mulheres : comportamento impulsivo , aspectos cognitivos e neuroquímicos Consumo de alcohol y diferencias entre hombres y mujeres : comportamiento impulsivo , aspectos cognitivos y neuroquímicos Consommation d. **Alcohol**, v. 2, n. 3, p. 1–11, 2010.

TEMBO, C.; BURNS, S.; KALEMBO, F. The association between levels of alcohol consumption and mental health problems and academic performance

among young university students. p. 1–13, 2017.

TOENNES, S. W. et al. Artifact production in the assay of anhydroecgonine methyl ester in serum using gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 792, n. 2, p. 345–51, 25 jul. 2003.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. World drug report. **Trends in Organized Crime**, v. 3, n. 2, p. 11–14, dez. 2015.

UNODC. **Global Study on Homicide 2013**.

UNODOC - United Nations Office on Drugs and Crime. Global Study on Homicide:Trends, Context, Data. Vienna, 2012.

VAUGHN, M. G. et al. Is Crack Cocaine Use Associated with Greater Violence than Powdered Cocaine Use? Results from a National Sample. **The American Journal of Drug and Alcohol Abuse**, v. 36, n. 4, p. 181–186, 21 jul. 2010.

VOLKOW, N. D. et al. Low level of brain dopamine D2 receptors in methamphetamine abusers: association with metabolism in the orbitofrontal cortex. **The American journal of psychiatry**, v. 158, n. 12, p. 2015–21, dez. 2001.

WASELFISZ, J. J. Mapa da Violência 2015: Mortes Matadas por Armas de Fogo. **Unesco**, p. 112, 2015.

WASELFISZ, J. J. Mapa Da Violência 2016 Homicídios Por Armas De Fogo No Brasil. 2016.

WELLS, S. et al. Aggression involving alcohol : relationship to drinking patterns and social context. n. Hull 1981, p. 33–42, 2003.

WOODWARD, J. J. A comparison of the effects of ethanol and the competitive glycine antagonist 7-chlorokynurenic acid on N-methyl-D-aspartic acid-induced neurotransmitter release from rat hippocampal slices. **Journal of neurochemistry**, v. 62, n. 3, p. 987–91, mar. 1994.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Interpersonal violence and alcohol. p. 1–16, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global status report on alcohol and health 2014**. GENEVA.

XU, Y. Q.; CRUMB, W. J.; CLARKSON, C. W. Cocaethylene, a metabolite of cocaine and ethanol, is a potent blocker of cardiac sodium channels. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 271, n. 1, p. 319–25, out. 1994.

ZALESKI, M. et al. [Neuropharmacological aspects of chronic alcohol use and withdrawal syndrome]. **Revista brasileira de psiquiatria (São Paulo, Brazil :**

1999), v. 26 Suppl 1, n. Supl I, p. S40-2, maio 2004.

ZWEIPFENNING, P. G. et al. Toxicological analysis of whole blood samples by means of Bond-Elut Certify columns and gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. **Journal of chromatography. A**, v. 674, n. 1–2, p. 87–95, 15 jul. 1994.

7 ANEXOS

Anexo I

7.4 Dosagem de Etanol – Procedimento Operacional Padrão (POP).

8.2.1 Materiais e equipamento:

- Balança analítica;
- Balão volumétrico de 1000 mL;
- Balão volumétrico de 100 mL, 200mL e 250mL;
- Pipeta volumétrica de volume ajustável de 100 - 1000 µL;
- Pipeta volumétrica de volume fixo de 100 µL;
- Equipamento de cromatografia gasosa com detector de ionização em chama – 450 GC.

8.2.2 Modo de preparo dos reagentes (soluções – padrão):

Solução de propanol – padrão interno

- Acrescentar 100g de cloreto de sódio PA, dissolvido em 100mL de água destilada, no balão;
- Colocar 150µL do solvente N-propanol grau PA em um balão volumétrico de 1000 mL;
- Completar o volume do balão volumétrico com água destilada.

Solução de etanol – pontos da curva

- As concentrações de 25, 50, 100, 200 e 400 mg/dL de etanol estão disponíveis como padrões de referência;
- A concentração de 10 mg/dL de etanol é feita a partir da diluição de 625µL do padrão de etanol de 400 mg/dL em 25mL de água destilada (realizada em balão volumétrico).

Solução de etanol – pontos de controle da curva (2dg/L; 8dg/L e 20dg/L)

Controle de 2dg/L:

- As concentrações de 2, 8, 20 etanol estão disponíveis como padrões de referência;

8.2.3 Procedimento de preparo das amostras

8.2.3.1 Preparo da curva de calibração

A curva deve ser composta por seis pontos em triplicata nas respectivas concentrações: 1; 2,5; 5; 10; 20 e 40 dg/L de etanol. Para tanto, o procedimento a ser seguido é:

- Pipetar 100 µL dos padrões de etanol no frasco de headspace;
- Acrescentar 500 µL do padrão interno N-propanol;
- Lacrar o frasco de headspace imediatamente.

A curva de calibração somente será aceita quando o coeficiente de correlação foi maior que 0,98 (Resolução 899/04 – Anvisa).

8.2.3.2 Preparo do controle da curva

Realizar o mesmo procedimento abaixo para a preparação dos três pontos de controle: 2dg/L; 8dg/L e 20dg/L:

- Pipetar 100 µL das soluções de controle no frasco de headspace;
- Acrescentar 500 µL do padrão interno N-propanol;
- Lacrar o frasco de headspace imediatamente.

8.2.3.3 Preparo das amostras

- Pipetar 100 µL de sangue total com fluoreto de sódio ou EDTA no frasco de headspace;
- Acrescentar 500 µL do padrão interno N-propanol;
- Lacrar o frasco de headspace imediatamente e injetar no equipamento de cromatografia gasosa.

8.2.3.4 Método cromatográfico:

O método cromatográfico utilizado é o VOLÁTEIS. Os seguintes parâmetros são relativos ao método:

a. Coluna cromatográfica:

Coluna de 30 metros, 0,32 mm de diâmetro, 1,8 µm de filme.

b. Condições do cromatógrafo em fase gasosa:

Modo de injeção: split 1:20

Temperatura do injetor: 250°C

Fluxo de 1.0 mL/min – modo fluxo constante

Rampa: temperatura inicial de 50°C mantida por 4 minutos, sobe a 5°C/minuto até 80°C, 30°C/ minuto até 140°C, essa temperatura final é mantida por 3 minutos.

c. Condições do detector de ionização em chama:

Temperatura: 300°C

Tempo constante: rápido;

Range: 12;

Autozero: Yes;

Make-up (N2): 29ml/min

H2: 30mL/min

Ar: 300mL/min

d. Condições do injetor automático:

Modo de injeção: heaspace

Temperatura da seringa: 80°C;

Temperatura do forno de incubação: 80°C;

Tempo de incubação: 15 minutos à 500 rpm;

Volume de injeção: 250µL

Bandeja (tray) 1 e 2.

8.2.3.5 Resultados da validação analítica

Limite de detecção: 1 dg/L

Limite de quantificação: 1dg/L

Recuperação: não aplicável

Linearidade: $y = 0,0918x + 0,0217$

$$R^2 = 0,9986$$

8.2.4 Avaliação dos resultados

8.2.4.1 Avaliação dos resultados das amostras

- Avaliar o tempo de retenção (TR) do etanol, que deve ser de 4,33 minutos ($\pm 2\%$);
- Avaliar a presença e o tempo de retenção do padrão interno, que deve ser de 6,77 minutos ($\pm 2\%$) e a sua ausência determina a preparação de uma nova amostra;
- Avaliar o tempo de retenção relativo (TRr), por meio da fórmula abaixo:

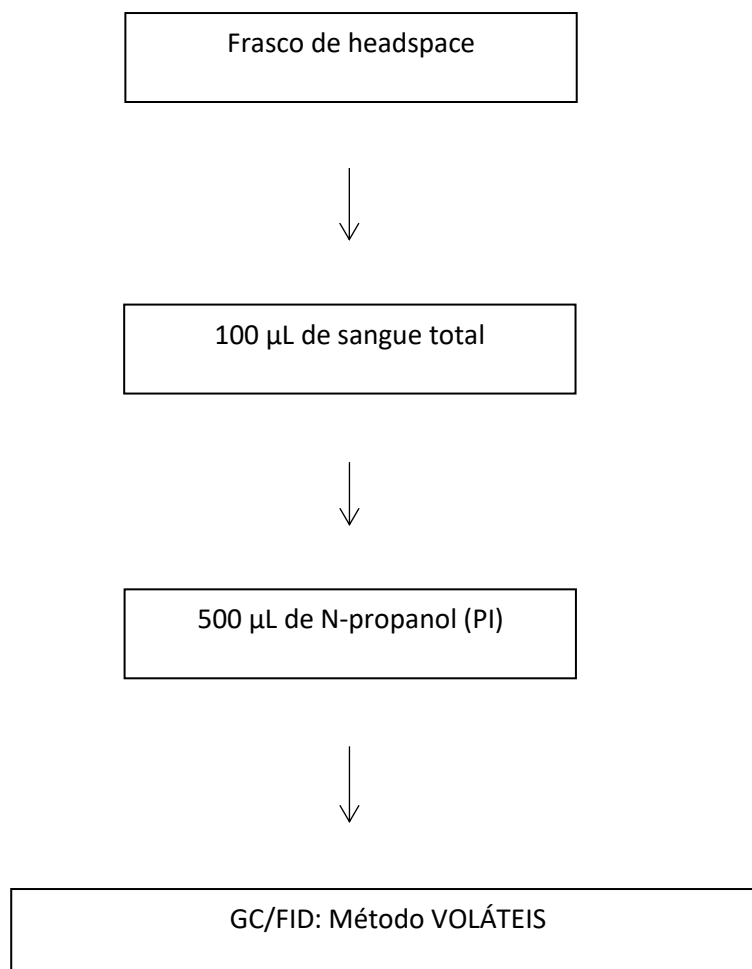
$$TRr = \frac{TR \text{ do etanol}}{TR \text{ do n-propanol (PI)}}$$

TR do n-propanol (PI)

O resultado deve ser de 0,64 ($\pm 1\%$)

8.2.5 Fluxograma de análise

Realizar o mesmo fluxograma para as amostras e para os controles de qualidade.



Anexo II

8.3 Dosagem de Cocaína e seus metabólitos – (POP).

8.3.1 Reagentes:

Para o procedimento de extração serão utilizados os seguintes reagentes e soluções:

- Metanol grau HPLC;
- Acetona grau HPLC;
- Diclorometano grau HPLC;
- Álcool Isopropílico HPLC
- Hidróxido de amônia PA,
- Ácido acético glacial PA;
- Fosfato de sódio dibásico anidro (Na_2HPO_4) PA ACS,
- Fosfato de potássio monobásico anidro (KH_2PO_4) PA ACS,
- Tampão fosfato pH 6,0;
- Ácido acético 0,01M;

O tampão fosfato pH 6,0 é preparado dissolvendo 1,18g Na_2HPO_4 em 100mL de água deionizada e 9,078g KH_2PO_4 em 1000mL de água deionizada. Após o preparo das soluções, uma alíquota de 50mL da solução de Na_2HPO_4 é adicionada a 950mL da solução de KH_2PO_4 e pH ajustado em pHmetro digital adicionando pequenas quantidades da solução de Na_2HPO_4 , até pH 6,0.

A solução de ácido acético 0,01M é preparada pela adição de 580µL do ácido acético glacial em quantidade suficiente para 1 litro de solução.

A solução eluente de Diclorometano/Álcool Isopropílico/NH₄OH (78:20:2, v/v) é preparada adicionando 78 parte de Diclorometano com 20 partes de Álcool Isopropílico. A solução deve ser preparada sempre no dia da análise pela adição de 2 partes de NH₄OH. Após, a solução deve ser sonicada por 5 minutos imediatamente antes do uso para garantir a dissolução do NH₄OH.

Os padrões de referência cocaína, cocaetileno, bezoilecgonina (BEG), éster metil ecgonina e éster metilanidroecgonina e cocaína D3 em soluções de metanol ou acetonitrila (cocaína D3) na concentração de 1mg/mL.

O agente de derivatização *N*-methyl-*N*-trimethylsilyltrifluoroacetamide (MSTFA).

Os cartuchos de extração em fase sólida (SPE).

8.3.2 Equipamentos e acessórios

As análises serão realizadas em equipamento de cromatografia em fase gasosa (CP 3800) acoplado a espectrometria de massas. O CG-MS está equipado com coluna capilar 30 metros de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e 0,25µm de filme e amostrador automático.

Como gás de arraste, utilizamos o Hélio com grau de pureza analítica 6.0.

Os procedimentos de extração em fase sólida serão realizados com o auxílio de um suporte para extração a vácuo de 24 posições conectado a uma bomba de vácuo.

As amostras serão evaporadas à secura em banho seco e fluxo de nitrogênio com grau de pureza 2.0.

8.3.3 Calibradores e controles

Soluções de trabalho dos analitos serão preparadas nas concentrações de 1 e 10µg/mL e adicionadas em volumes variados para obtenção das concentrações desejadas (5 a 500µg/mL) dos calibradores e controles positivos. As amostras negativas ou brancos de análise, serão formadas pelo sangue acima descrito e previamente testado para os analitos de interesse e possíveis interferentes.

8.3.4 Procedimento de extração das amostras

Os procedimentos de extração se basearão na técnica proposta por ZWEIPFENNING et al (1994). As análises são feitas utilizando 1,0mL de sangue total, 6,0mL de tampão fosfato pH 6,0 e 10µL dos padrão interno deuterado (cocaína-D3) na concentração de 10µg/mL a fim de se obter uma concentração final de 100ng/mL destes. Para facilitar os procedimentos de pipetagem, o padrão interno foi colocado em solução metanólica com

concentração final de 10µg/mL. Após a adição do sangue, da solução tampão e da solução do padrão interno, a amostra é sonicada por 15 minutos à temperatura ambiente e então centrifugada a 2.500 rpm por 15 minutos.

Anteriormente à aplicação das amostras é necessário fazer o condicionamento dos cartuchos de extração em fase sólida, adicionando 2mL de metanol seguido de 2mL de tampão fosfato a um fluxo de 12 mL/min. É importante não permitir que o cartucho seque nessa fase. O sobrenadante obtido após a centrifugação das amostras é então aplicado nos cartuchos de extração a um fluxo constante de 1,2 mL/min. Após a completa passagem da amostra pelo cartucho, este é lavado com 1mL de água e depois com 0,5mL de ácido acético 0,01M. É aplicado vácuo máximo por 5 minutos seguido da adição de 50µL de metanol com vácuo máximo por mais 1 minuto para garantir a completa secagem dos cartuchos.

Antes da eluição, os cartuchos são passados para uma válvula limpa no suporte para extração SPE. A eluição é feita em duas etapas: A eluição dos compostos neutros e ácidos é feita com 4mL (2 x 2mL) da solução de acetona/clorofórmio (1:1, v/v) em tempo aproximado de 5 minutos. Logo em seguida é feita a eluição dos compostos básicos por adição de 3mL da solução de acetato de etila com 2% de NH₄OH. Os extratos ácido e básico são recolhidos em um único tubo que é levado para evaporação em banho seco à 40°C, sob fluxo de nitrogênio. Antes da completa secagem dos tubos, os resíduos de solvente (cerca de 0,5mL) são transferidos para *via*/s de 2mL devidamente identificados.

Após a completa secagem das amostras, estas serão derivatizadas com 50µL de MSTFA a uma temperatura de 80°C, por 30 minutos.

8.3.5 Condições cromatográficas

Após completa a derivatização, as amostras serão transferidas para *inserts* de 200µL para possibilitar a injeção automática de 1µL no cromatógrafo em fase gasosa acoplado ao espectrômetro de massas (GC-MS).

A amostra será injetada no modo *splitless*, com temperatura do injetor de 280°C e pulso de pressão de 25psi por 1,1 minutos. O fluxo de Hélio foi mantido constante em 1,1mL/min. A rampa de temperatura do forno da coluna está programada para iniciar a 90°C onde permanece por 2 minutos, em seguida vai até 220°C a uma taxa de 10°C/min e então a temperatura se eleva até 290°C a uma taxa de 30°C/min, permanecendo nesta temperatura por 6 minutos. A interface do cromatógrafo em fase gasosa com o espectrômetro de massas será ajustada para trabalhar a uma temperatura de 250°C. O espectrômetro de massas está programado para trabalhar com apenas 2 segmentos de massas, a saber:

Tabela 1 – Segmentos do espectrômetro de massas.

Segmentos	Tempo	Faixa de massas	Modo de ionização
Desligado	0 a 6 min	Nenhuma	Nenhum
FullScan	6 a 23.33 min	70 a 500 m/z	Impacto de elétrons (EI)

Durante o desenvolvimento do método, amostras de sangue total adicionadas de todos os analitos e padrões internos serão analisadas para determinação dos tempos de retenção (TR's), parâmetros de integração e determinação dos íons quantificador e qualificadores, conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Íons de identificação, quantificação e TR's dos analitos.

Analitos	Íons qualificadores (m/z)	Íon quantificador (m/z)	Tempo de retenção (min)
AEME	109, 181	152	9,706
EME	94, 96	82	11,989
Cocaína	82, 303	182	17,477
Cocaína D3	85	185	17,489
Cocaetileno	82, 318	196	17,751
BEG D3	85, 361	243	18,030
BEG	82, 361	240	18,030